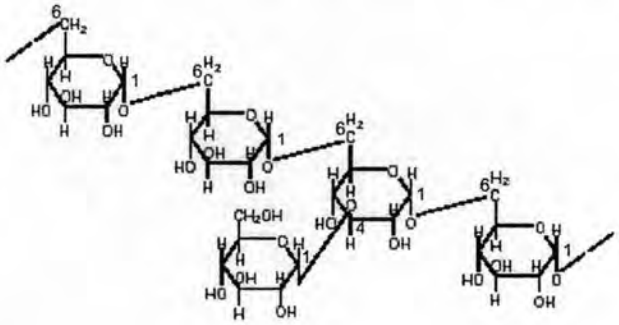
หอสมุดกลาง ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

วารสารปริทรรศน์

เดกซ์แทรน (dextran)

เดกซ์แทรนเป็นฮอมอพอลิแซ็กคาไรด์ (homopolysaccharide) ชนิดที่ผลิตและปลดปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ (exopolysaccharide) (Jeanes และคณะ, 1954; Robyt, 1986 และ Broadbent และคณะ, 2003) ที่ประกอบขึ้นจากหน่วยย่อยของน้ำตาลดี-กลูโคส (D-glucose) ที่ได้จากการสลายของซูโครสมาจับกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic linkage) หรือที่เรียกว่า กลูแคน (glucan) โดยพันธะนี้จะเป็นชนิด α-1,6 เป็นส่วนใหญ่ และยังประกอบด้วยพันธะไกลโคซิดิกชนิด α-1,2 α-1,3 และ α-1,4 เป็นส่วนของกิ่งสาขาอีกด้วย (Jeanes และคณะ, 1954; Robyt, 1986; Dols-Lafargue และคณะ, 1997b และ Park และคณะ, 2001) ดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 โครงสร้างของเดกซ์แทรน (http://www.dextran.net, ©2006 Pharmacosmos A/S)

เดกซ์แทรนมีลักษณะเหนียวหนืด เป็นเมือก (Chen และ Chou, 1993) หรือเป็นแผ่นเมือกคล้ายกาว ละลายน้ำได้ยาก ซึ่งมวลโมเลกุล ชนิดและจำนวนของพันธะ เป็นสิ่งที่บ่งบอกถึงความสามารถในการละลายน้ำของเดกซ์แทรน โดยการละลายน้ำสามารถอธิบายได้จากการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของเดกซ์แทรนกับน้ำ (Uraz และ Güner, 1997)

การผลิตเดกซ์แทรนที่มีโครงสร้างและคุณสมบัติที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของเดกซ์แทรนซูเครสที่จุลินทรีย์แต่ละชนิดสร้างขึ้น (Jeanes และคณะ, 1954 และ Robyt, 1986) โดยเอนไซม์ชนิดนี้มีความจำเพาะในการสลายพันธะของซูโครส และกระตุ้นปฏิกิริยาการต่อสายยาว

ของเดกซ์แทรน (Chludzinsky และคณะ, 1974 และ Monchois และคณะ, 1998b) โดยจะกล่าวถึงส่วนประกอบและกลไกการทำงานของเดกซ์แทรนซูเครสในหัวข้อต่อไป

เดกซ์แทรนซูเครส (dextransucrase)

เดกซ์แทรนเกิดจากการทำงานของเดกซ์แทรนซูเครส (dextransucrase) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่ากลูโคซิลทรานสเฟอเรส (glucosyltransferase, GTF) (1,6-α-glucan:D-glucose-2-glucosyltransferase; E.C. 2.4.1.5) ของแบคทีเรียหลายชนิด ได้แก่ แบคทีเรียในกลุ่มของ *Leuconostoc* sp. ซึ่งพบได้ทั่วไปในดิน และกลุ่มของ oral streptococci หรือ mutans streptococci ซึ่งอยู่ภายในช่องปาก เอนไซม์ชนิดนี้เป็นชนิดที่สร้างออกมาภายนอกเซลล์ (Barker และ Ajongwen, 1991 และ Park และคณะ, 2001) และต้องการการชักนำ โดยสารชักนำและแหล่งพลังงานในการสร้างเดกซ์แทรนโดย *L. mesenteroides* คือ ซูโครส (Mizutani และคณะ, 1994) ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มของ *Streptococcus* sp. (Sidebotham, 1974; Hamada และ Slade, 1980 และ Eifuku และคณะ, 1989) และสายพันธุ์กลายบางชนิดของ *L. mesenteroides* ได้แก่ *L. mesenteroides* สายพันธุ์ B-512 FMC, B-742, B-1142, B-1299 และ B-1355 ซึ่งสายพันธุ์กลายเหล่านี้ไม่ต้องการการชักนำจากซูโครส (Robyt และ Walseth, 1979; Kim และ Robyt, 1995a; Kitaoka และ Robyt, 1998; Cote และคณะ, 1999 และ Monsan และคณะ, 2001)

เดกซ์แทรนซูเครสประกอบด้วย 3 หน่วยย่อย คือ GTF1 GTF2 และ GTF3 ซึ่งในส่วนของ GTF1 จะเป็นส่วนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กลูแคนที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ (insoluble glucan) GTF2 จะเป็นส่วนที่เกี่ยวกับการสังเคราะห์แอลเทอร์แนน (alternan) ซึ่งเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ประกอบด้วยพันธะไกลโคซิดิกชนิด α-1,6 และ α-1,3 เป็นส่วนใหญ่ และส่วน GTF3 เป็นส่วนที่เกี่ยวกับการสังเคราะห์เดกซ์แทรนที่สามารถละลายน้ำได้ (soluble dextran) (Zahnley และ Smith, 1995)

จากโครงสร้างของเดกซ์แทรนซูเครส ในส่วนของเพปไทด์สัญญาณ (signal peptide) จะแบ่งออกเป็น 2 ส่วนที่มีความเกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์

1. โดเมนเร่งปฏิกิริยาด้านปลาย N หรือปลายอะมิโน (N-terminal catalytic domain) ประกอบด้วยกรดอะมิโนประมาณ 900 หมู่ ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการควบคุมแอคติวิตีของเอนไซม์ในการผลิตเดกซ์แทรน (Ferretti และคณะ, 1987 และ Abo และคณะ, 1991) และส่วน

หอสมุดกลาง ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ของปลายอะมิโนนี้ยังเป็นส่วนประกอบของบริเวณเร่งในการสลายน้ำตาลซูโครสด้วย (Mooser และคณะ, 1991; Kato และคณะ, 1992 และ Tsumori และคณะ, 1997)

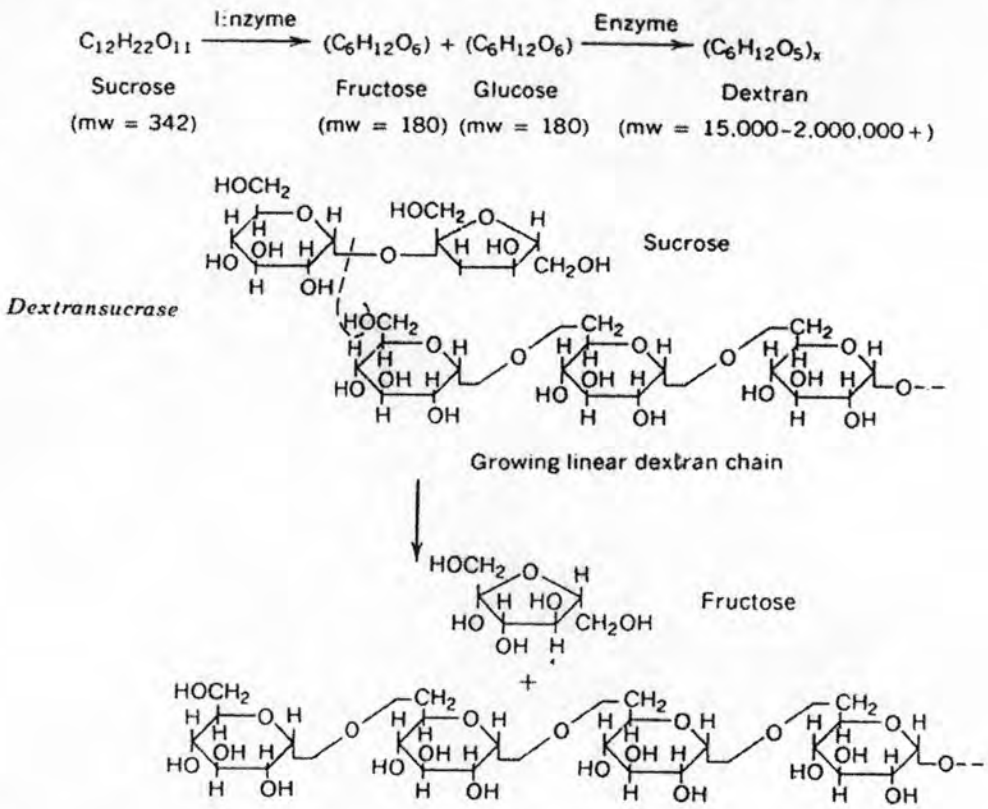
2. โดเมนปลาย C หรือปลายคาร์บอกซี (C-terminal domain) ประกอบด้วยกรดอะมิโนประมาณ 300-400 หมู่ (Ferretti และคณะ, 1987) และจะมีหน่วยย่อยของกรดอะมิโนซ้ำๆ กันประมาณ 30 หมู่ (Giffard และ Jacques, 1994) ซึ่งเป็นส่วนสำคัญในการควบคุมแอคติวิตีของกลูโคซิลทรานสเฟอเรสในการเชื่อมต่อของพอลิแซ็กคาไรด์ (Ferretti และคณะ, 1987; Kato และ Kuramitsu, 1990; Abo และคณะ, 1991 และ Lis และคณะ, 1995) โดยหน่วยย่อยของกรดอะมิโนที่ซ้ำกันนั้น จะแบ่งออกเป็นกลุ่มได้จากความคล้ายคลึงกันของลำดับกรดอะมิโน (Ferretti และคณะ, 1987; Von Eichel-Streiber, 1992 และ Giffard และ Jacques, 1994) ซึ่งจะส่งผลต่อการผลิตเดกซ์แทรนที่แตกต่างกันด้วย เช่น ส่วนของ GTF-S ของ *S. mutans* ประกอบด้วยกลุ่มของหน่วยย่อยของกรดอะมิโนที่ซ้ำกันชนิด A 4 กลุ่ม จะผลิตกลูแคนที่สามารถละลายน้ำได้ ซึ่งประกอบด้วยพันธะไกลโคซิดิกชนิด α-1,6 เป็นส่วนใหญ่ แตกต่างจากส่วนของ GTF-I ของ *S. mutans* ที่จะประกอบด้วยกลุ่มของหน่วยย่อยที่ซ้ำกันชนิด A 2 กลุ่ม จะผลิตมิวแทน (mutan) ที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ ซึ่งประกอบด้วยพันธะไกลโคซิดิกชนิด α-1,3 เป็นส่วนใหญ่ (Ferretti และคณะ, 1987; Kato และ Kuramitsu, 1990 และ Abo และคณะ, 1991) ดังนั้นโดเมนปลายคาร์บอกซีจึงมีความเกี่ยวข้องกับโครงสร้างของกลูแคน

ปัจจุบันกลไกการทำงานของกลูโคซิลทรานสเฟอเรสยังไม่มีการเปิดเผยอย่างแน่ชัด ซึ่งในภาวะที่มีซูโครสเป็นสารชักนำ แบคทีเรียจะผลิตกลูโคซิลทรานสเฟอเรส ที่มีความจำเพาะในการเร่งปฏิกิริยา 2 ปฏิกิริยาด้วยกัน (Gómez de Segura และคณะ, 2004) คือ

1. ปฏิกิริยาการสลายน้ำตาลซูโครส ไปเป็นน้ำตาลกลูโคสและฟรักโทส (substrate reaction)

2. ปฏิกิริยาทรานสไกลโคซิเลชัน (transglycosylation) หรือปฏิกิริยาการพาโมเลกุลของน้ำตาลดี-กลูโคสจากการสลายของน้ำตาลซูโครส มาเชื่อมต่อกับโมเลกุลของน้ำตาลหรือคาร์โบไฮเดรต ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวรับ (acceptor) ในการต่อสายยาวของกลูโคสให้กลายเป็นเดกซ์แทรน (acceptor reaction) (Koepsell และคณะ, 1952; Robyt และ Taniguchi, 1976; Robyt

และ Walseth, 1978; Robyt และ Elkund, 1983 และ Dols-Lafargue และคณะ, 1998) พร้อมทั้งปล่อยฟรักโทสอิสระออกมา (Sutherland, 1996) โดยจะไม่เร่งปฏิกิริยาการต่อสายยาวของกลูโคสอิสระ หรือกลูโคสจากน้ำตาลโมเลกุลคู่ชนิดอื่น (Jordan และ Keyes, 1966) ซึ่งกลไกการเกิดกิ่งสาขาของเดกซ์แทรนจะเกิดขึ้นในขั้นตอนนี้ (Robyt และ Taniguchi, 1976) ดังรูปที่ 2.2



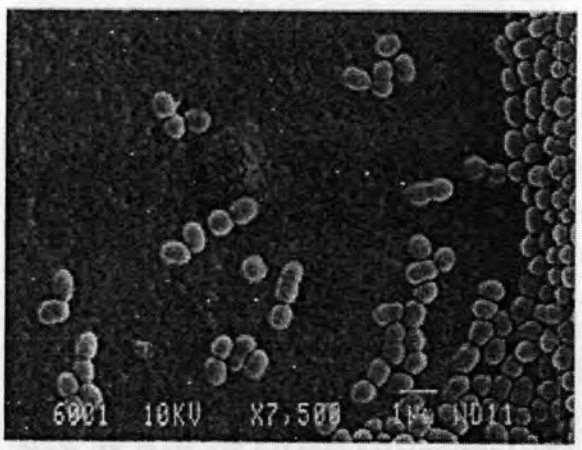
รูปที่ 2.2 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์เดกซ์แทรนจากเดกซ์แทรนซูเครส (Chen และ Chou, 1993)

การสังเคราะห์เดกซ์แทรนโดยเดกซ์แทรนซูเครสจากแบคทีเรียในกลุ่มของ *Leuconostoc* sp. มีความเกี่ยวข้องกับไอออนของโลหะ (metal ion) โดยโมเลกุลของแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) ในปริมาณน้อยกว่า 1 มิลลิโมลาร์ จะมีผลต่อการเร่งปฏิกิริยาการสังเคราะห์เดกซ์แทรน และยังมีส่วนช่วยในการรักษาเสถียรภาพของเอนไซม์อีกด้วย แต่เมื่อความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนสูงขึ้นจะมีผลในการยับยั้งการทำงานของเดกซ์แทรนซูเครส (Neely และ Hallmark, 1961; Lawford และคณะ, 1979; Robyt และ Walseth, 1979; Kaboli และ Reilly, 1980; Kobayashi และ Matsuda, 1980; Lopez-Munguia และ Monsan, 1980 และ Miller และ Robyt, 1984) ซึ่งแตกต่างจากเดกซ์แทรนซูเครสในกลุ่มของ *Streptococcus* sp. ที่แคลเซียมไอออนจะไม่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ (Carlsson และคณะ, 1969; Chludzinski และคณะ, 1974; Newbrun, 1976 และ

Huang และคณะ, 1979) นอกจากนี้เดกซ์แทรนซูเครสยังคงความเสถียรได้เป็นอย่างดีในภาวะที่มีตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) และเอทานอล เป็นต้น (Girard และ Legoy, 1999)

จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเดกซ์แทรน

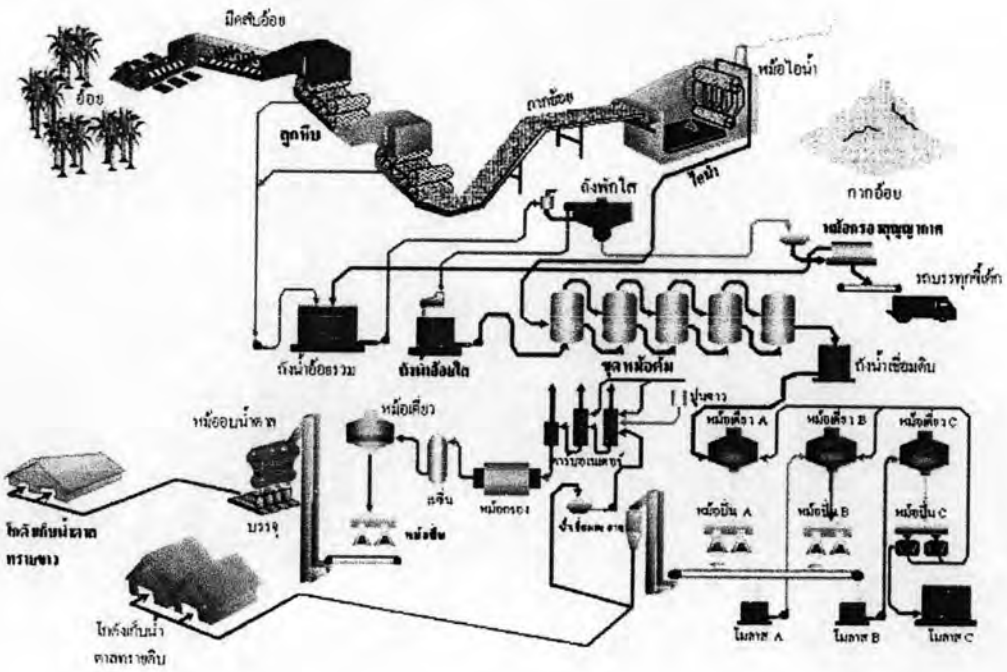
1. แบคทีเรียในกลุ่มของ *Leuconostoc* spp. ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาล ได้แก่ *L. dextranicum* และ *L. mesenteroides* เป็นต้น ดังรูปที่ 2.3 จุลินทรีย์กลุ่มนี้มีความสามารถในการสร้างกรดแลคติก (lactic acid bacteria, LAB) มีรูปร่างตั้งแต่รูปกลม รูปแท่งสั้น หรือรูปแท่งยาว โดยจะแตกต่างกันไปตามภาวะในการเจริญ (มีขนาดประมาณ 0.5–0.7 X 0.7–1.2 ไมโครเมตร) และอาจอยู่แยกกันเดี่ยวๆ เป็นคู่ เป็นกลุ่ม หรือเป็นสายโซ่ได้ เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนไหว และเป็นแบคทีเรียชนิดที่ต้องการอากาศเล็กน้อยในการเจริญเติบโต (facultative anaerobe bacteria) และไม่ก่อให้เกิดโรค (Reiter และ Oram 1982; Garvie, 1986 และ Aline, 1999) ซึ่งสามารถพบได้ทั่วไปในดินจึงมีการติดปะปนมากับอ้อยในขั้นตอนการเก็บเกี่ยว



รูปที่ 2.3 ลักษณะของ *L. mesenteroides* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Aline, 1999)

Leuconostoc sp. มีความสามารถในการใช้ซูโครสในน้ำอ้อยดิบเป็นสารตั้งต้นเพื่อผลิตเดกซ์แทรน โดยเดกซ์แทรนจะไปเพิ่มความหนืดของน้ำหวาน (raw juice) หรือน้ำอ้อยดิบที่จะใช้ผลิตน้ำตาลทราย ทำให้เกิดปัญหาขึ้นในระหว่างกรรมวิธีการผลิตน้ำตาลขั้นต่อๆ ไป เช่น การกรอง

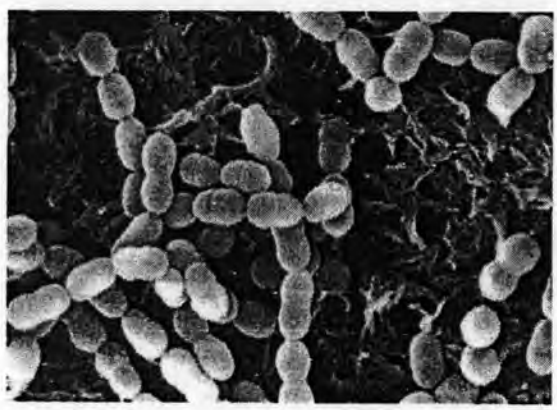
การเคี่ยว การทำใส และการตกผลึก เป็นต้น (James และ Cameron, 1971 และ Geronimos และ Greenfield, 1978) ดังแสดงขั้นตอนกระบวนการผลิตน้ำตาลรูปที่ 2.4 โดยเมือกเหนียวจะไปอุดตันตามรู ท่อ ข้อต่อของเครื่องมือเครื่องใช้ ทำให้อัตราการไหลและการกรองต่ำลงจนถึงเกิดการหยุดชะงัก (Madhu และคณะ, 1984) เป็นปัญหาต่อการผลิตตลอดจนยากต่อการล้างทำความสะอาดเครื่องมือเหล่านั้น และอาจทำให้เกิดผลึกของน้ำตาลช้า ไม่สมบูรณ์ หรือมีรูปร่างที่แตกต่างไปจากเดิม (Imrie และ Tilbury, 1972 และ Covacevich และคณะ, 1977) โดยมีผู้รายงานไว้ว่าถ้าในน้ำเชื่อมเข้มข้น (sugar syrup) มีปริมาณเดกซ์แทรนสูงเกินกว่า 250 ส่วนในล้านส่วน (ppm) จะส่งผลต่อการยับยั้งกระบวนการทำใสของน้ำตาล (Day, 1992 และ Chung, 2000) นอกจากนี้เดกซ์แทรนยังทำให้เกิดการเกาะติดของจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่สามารถใช้ซูโครสในการผลิตกรดอินทรีย์ เช่น กรดแลคติก กรดอะซิติก และเอทานอล เป็นต้น น้ำอ้อยที่ได้จึงมีคุณสมบัติเปลี่ยนแปลงไปเกิดกลิ่นที่ไม่ดี เหนียว ขุ่น เกิดการเน่าเสีย ทำให้ปริมาณซูโครสในน้ำอ้อยลดลง นอกจากนี้เดกซ์แทรนยังทำให้เกิดปัญหาในการตรวจวัดคุณภาพความหวานของอ้อย เนื่องจากคุณสมบัติทางชีวเคมีของเดกซ์แทรนสามารถเบี่ยงเบนแสงโพลาไรซ์ (polarized light) ได้สูงกว่าซูโครสถึง 3 เท่า ดังนั้นทำให้การอ่านค่าการเบี่ยงเบนแสงเพื่อวัดปริมาณน้ำตาลเกิดความผิดพลาด (Chen และ Chou, 1993 และ Godshall และคณะ, 1994)



รูปที่ 2.4 กระบวนการผลิตน้ำตาล (http://www.wangkanai.com)

เดกซ์แทรนที่สร้างจากจุลินทรีย์ในกลุ่มของ *Leuconostoc* sp. จะเป็นเดกซ์แทรนที่ต่างจากพอลิแซ็กคาไรด์ทั่วไป ซึ่งในช่วงของการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย พอลิแซ็กคาไรด์โดยทั่วไปจะสังเคราะห์จากสารตั้งต้นภายในเซลล์จากแหล่งคาร์บอนหลายชนิด แต่เดกซ์แทรนจากจุลินทรีย์กลุ่มนี้จะสังเคราะห์โดยใช้ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนเท่านั้น (Sutherland, 1996) และชนิดพันธะของเดกซ์แทรนที่ผลิตได้ จะทำให้เดกซ์แทรนชนิดนี้มีความสามารถในการละลายน้ำมากกว่าเดกซ์แทรนจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น

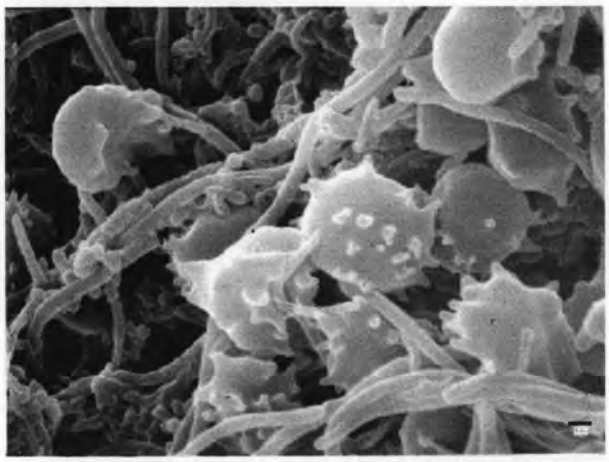
2. แบคทีเรียในกลุ่มของ oral streptococci หรือ mutans streptococci ภายในช่องปาก ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาของฟันผุจากการสร้างคราบจุลินทรีย์ โดยมีส่วนประกอบของเดกซ์แทรนหรือที่เรียกว่ากลูแคน (glucan) อยู่ด้วย (Gibbons และ Banghart, 1967; Guggenheim และ Schroeder, 1967; Hamada และ Slade, 1980 และ Kubo และคณะ, 1993) ได้แก่ *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. sobrinus*, *S. salivarius* และ *S. downei* เป็นต้น (Tsumuraya และ Misaki, 1979 และ Whiley และ Beighton, 1998) แบคทีเรียเหล่านี้มีรูปร่างกลม และมักเรียงต่อกันเป็นสายยาว เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ และต้องการออกซิเจน ในการเจริญ ดังรูปที่ 2.5



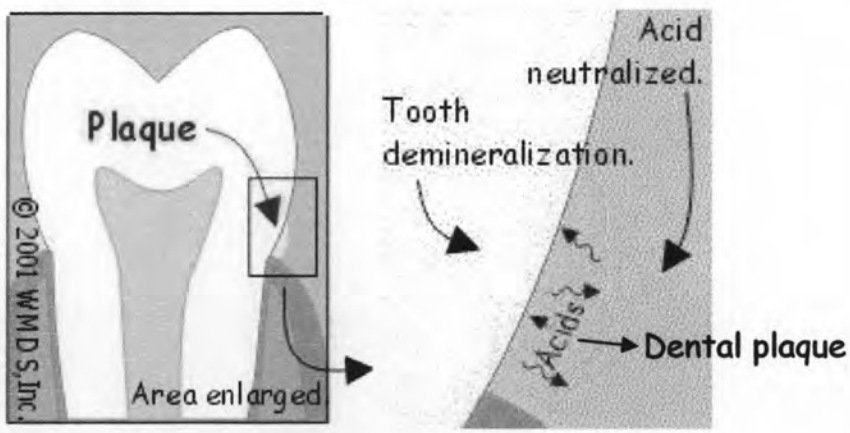
รูปที่ 2.5 ลักษณะของ *S. mutans* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Clarke, 1924)

กลูแคนที่แบคทีเรียกลุ่มนี้ผลิตจะประกอบด้วยกลูแคนทั้งชนิดที่สามารถละลายน้ำ (เดกซ์แทรน) และไม่สามารถละลายน้ำ (มิวแทน) (Mooser และ Iwaoka, 1989) โดยกลูแคนชนิดที่สามารถละลายน้ำจะก่อการรวมกลุ่มของจุลินทรีย์ และในเวลาต่อมากลูแคนชนิดที่ไม่สามารถละลายน้ำ จะเป็นสาเหตุสำคัญทำให้เกิดเกาะยึดของจุลินทรีย์อื่นบนผิวฟันกลายเป็นคราบจุลิน

ทรีย์ (Walker และคณะ, 1984) ดังรูปที่ 2.6 ซึ่งแสดงถึงความหลากหลายของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ จากคราบจุลินทรีย์ โดยส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (scanning electron microscope, SEM) และจากนั้นแบคทีเรียที่เกาะอยู่บนคราบจุลินทรีย์จะสร้างกรดอินทรีย์ เช่น กรดแลคติกออกมาทำลายผิวฟัน โดยกรดแลคติกจะทำให้เนื้อฟันกลายเป็นโพรงหรือรูขึ้นจนเกิดอาการฟันผุในเวลาต่อมา (Marotta และคณะ, 2002) ดังรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.6 การเกาะยึดของจุลินทรีย์บนผิวฟันที่ก่อคราบจุลินทรีย์ (http://www.bact.wisc.edu/themicrobialworld/dental.html, © 2006 Kenneth Todar University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology)



รูปที่ 2.7 การเกิดฟันผุจากกรดของจุลินทรีย์ในคราบฟัน
(http://www.animated-teeth.com, ©WMDS, Inc., 2001)

3. จุลินทรีย์กลุ่มอื่นๆ อาทิ *Lactobacillus* sp. (Sidebotham, 1974) และ *Acetobacter* sp. ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มของ *Lactobacillus* sp. จะมีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกแบคทีเรีย (probiotic bacteria) เดกซ์แทรนหรือกลูแคนจากแบคทีเรียกลุ่มนี้จะมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก (prebiotic) ช่วยกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียชนิดโพรไบโอติกที่อยู่ในลำไส้ ให้การขับถ่ายเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ (Monsan และ Paul, 1995; Olano-Martin และคณะ, 2000 และ Chung และ Day, 2002) และแบคทีเรียกลุ่ม *Acetobacter capsulatus* หรือ *Gluconobacter oxydans* และ *Acetobacter viscous* ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มนี้มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ที่ชื่อว่า เดกซ์แทรน เดกซ์ทรินเนส (dextran dextrinase หรือ DDase; EC 2.4.1.2) ทำหน้าที่เปลี่ยนเดกซ์ทรินซึ่งมีโครงสร้างประกอบด้วยพันธะไกลโคซิดิกชนิด α-1,6 และ α-1,4 คล้ายกันกับแป้งให้กลายเป็นเดกซ์แทรน โดยเคลื่อนย้ายหมู่กลูโคซิลที่มีพันธะชนิด α-1,6 และ α-1,4 จากปลายรีดิวซ์ของเดกซ์ทรินไปต่อกับปลายรีดิวซ์ของโมเลกุลของตัวรับ และเมื่อเกิดการเคลื่อนย้ายหมู่กลูโคซิลที่มีพันธะชนิด α-1,4 ไปในปริมาณมาก จะก่อให้เกิดการสะสมของเดกซ์แทรนซึ่งคงเหลือเฉพาะพันธะชนิด α-1,6 ตามมา (Hehre, 1951; Yamamoto และคณะ, 1993a และ Sim และคณะ, 2001)

เดกซ์แทรนที่ผลิตจากจุลินทรีย์ต่างชนิดและต่างสายพันธุ์กัน โดยอัตราการเจริญเติบโตและภาวะในการเลี้ยงจุลินทรีย์ชนิดนั้นๆ แตกต่างกัน จะมีโครงสร้างและสมบัติทางเคมีและทางกายภาพแตกต่างกันด้วย (Jeanes และคณะ, 1954; Sidebotham, 1974; Cote และ Robyt, 1983; Kim และ Robyt, 1995a; Walker และคณะ, 1990; Padmanabhan และ Kim, 2002 และ Kim และคณะ, 2003) เช่น ความเหนียวหนืด ความสามารถในการละลายน้ำ สัดส่วนของพันธะไกลโคซิดิกที่เป็นองค์ประกอบ ขนาดโมเลกุล การจัดเรียงตัวของโมเลกุล รวมทั้งตำแหน่ง จำนวน และความยาวในการเกิดกิ่งสาขา (Abbott และคณะ, 1966; Abbott และ Weigel, 1966; Seymour และ Knapp, 1980; Monchois และคณะ, 1999b; Mehvar, 2000 และ Tirtaatmadja และคณะ, 2001) โดยเดกซ์แทรนที่สร้างขึ้นโดย *L. mesenteroides* จะมีมวลโมเลกุลอยู่ในช่วงตั้งแต่ 1 ถึง $200x10^6$ ดาลตัน (Glicksman, 1993) และมักจะประกอบด้วยพันธะไกลโคซิดิกชนิด α-1,6 และ α-1,3 เป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ยังประกอบด้วยพันธะ α-1,4 และ α-1,2 แต่เป็นส่วนน้อย (Jeanes และ Wilham, 1950; Wilham และคณะ, 1955 และ Sutherland, 1996) โดยสามารถแบ่งชนิดของกลูแคนตามชนิดของพันธะไกลโคซิดิกได้เป็น 5 กลุ่มด้วยกัน คือ

1. เดกซ์แทรน ประกอบด้วยพันธะไกลโคซิดิกชนิด α-1,6 เป็นส่วนใหญ่ โดยจุลินทรีย์ที่ผลิตเดกซ์แทรนจะอยู่ในกลุ่มของ *Leuconostoc* sp. (Cerning, 1990)

2. แอลเทอร์แนน เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ประกอบด้วยพันธะไกลโคซิดิกชนิด α-1,6 และ α-1,3 เป็นส่วนใหญ่ จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตแอลเทอร์แนน คือ *L. mesenteroides* (Arguello-Morales และคณะ, 2000)

3. กลูแคนชนิดที่ประกอบด้วยพันธะไกลโคซิดิกชนิด α-1,2 เป็นส่วนใหญ่ จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตกลูแคนชนิดนี้ คือ *L. mesenteroides* สายพันธุ์ NRRL-B1299 และสายพันธุ์กลาย NRRL-B1355 (Bourne และคณะ, 1974; Kobayashi และคณะ, 1984; Mitsuhishi และคณะ, 1984; Smith และคณะ, 1998 และ Bozonnet และคณะ, 2002)

4. มิวแทน ประกอบด้วยพันธะไกลโคซิดิกชนิด α-1,3 เป็นส่วนใหญ่ จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างมิวแทนจะอยู่ในกลุ่มของ *Streptococcus* sp. (Hamada และ Slade, 1980)

5. ริวเทอแรน (reuteran) เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ประกอบด้วยพันธะไกลโคซิดิกชนิด α-1,4 เป็นส่วนใหญ่ จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตริวเทอแรน คือ *Lactobacillus reuteri* สายพันธุ์ 121 (Kralj และคณะ, 2003)

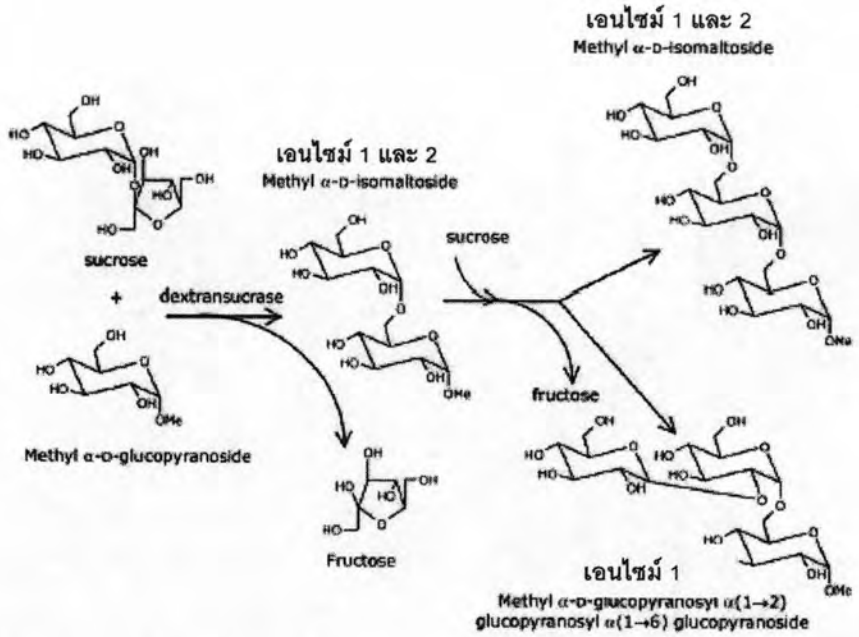
เดกซ์แทรนจาก *L. mesenteroides* สายพันธุ์ที่ใช้ในทางการค้า เช่น สายพันธุ์ NRRL B-512 และ B-512F จะประกอบด้วยพันธะชนิด α-1,6 มากถึง 95% และพันธะชนิด α-1,3 เป็นส่วนของกิ่งสาขาอยู่ประมาณ 5% (Sidebotham, 1974; Robyt และ Walseth, 1979 และ Santos และคณะ, 2000) ซึ่งแตกต่างจากเดกซ์แทรนที่ผลิตจาก *L. mesenteroides* สายพันธุ์อื่นๆ และ *Streptococcus* sp. ดังที่ได้กล่าวไปในข้างต้นแล้ว เช่น *L. mesenteroides* สายพันธุ์ B-1299 จะผลิตเดกซ์แทรนหรือกลูแคนที่มีพันธะไกลโคซิดิกชนิด α-1,2 เป็นกิ่งสาขาในปริมาณมาก (Bourne และคณะ, 1974; Kobayashi และคณะ, 1984 และ Mitsuhishi และคณะ, 1984) ส่วนกลูแคนจาก *S. mutans* สายพันธุ์ OMZ176 จะประกอบด้วยพันธะชนิด α-1,3 สูงถึง 90% และจาก *S. sanguis* สายพันธุ์ 804 จะประกอบด้วยพันธะชนิด α-1,6 และชนิด α-1,3 ในอัตราส่วนใกล้เคียง

กัน (Guggenheim, 1970 และ Hare และคณะ, 1978) จากตัวอย่างในตารางที่ 2.1 แสดงชนิดของยีนในการผลิตเดกซ์แทรนซูเครสจาก *L. mesenteroides* สายพันธุ์กลายต่างๆ ซึ่งยีนแต่ละชนิดจะส่งผลต่อการผลิตเดกซ์แทรนที่มีมวลโมเลกุล และชนิดพันธะของเดกซ์แทรนที่แตกต่างกันด้วย

ชนิดของสายพันธุ์จะส่งผลให้เดกซ์แทรนมีพันธะชนิดต่างๆ และจำนวนกิ่งสาขาแตกต่างกันไป (Gómez de Segura และคณะ, 2004) และนอกจากนี้ส่วนประกอบและภาวะในการผลิตเดกซ์แทรนซูเครสจะส่งผลให้เดกซ์แทรนมีน้ำหนักโมเลกุลที่แตกต่างกันด้วย (Kim และคณะ, 2003) เช่น การใช้ตัวรับโมเลกุลของกลูโคสที่ถูกปลดปล่อยออกมาต่างชนิดกัน จะทำให้เดกซ์แทรนที่ผลิตได้มีน้ำหนักโมเลกุลที่แตกต่างกัน โดยตัวรับจะมีความเกี่ยวข้องกับการควบคุมการต่อสายยาวของเดกซ์แทรน ในภาวะที่ไม่มีตัวรับโมเลกุลของกลูโคส หรือมีเพียงซูโครสเป็นสารชักนำหรือแหล่งสร้างพลังงานนั้น *L. mesenteroides* จะเกิดการสังเคราะห์พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงขึ้น (Hehre, 1955 และ Monchois และคณะ, 1999) สำหรับในภาวะที่ใช้มอลโทสซึ่งจัดเป็นตัวรับที่แรง จะทำให้มีการผลิตเดกซ์แทรนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงรองลงมา (Dols-Lafargue และคณะ, 1998) ซึ่งตรงข้ามกับภาวะที่ใช้ฟรักโทสซึ่งเป็นตัวรับที่อ่อนกว่า จะมีการเกิดปฏิกิริยาข้างเคียงในการผลิตลิวโครส (leucrose; 5-O-α-D-glucopyranosyl-D-fructopyranose) หรือไดแซ็กคาไรด์ที่มีฟรักโทสเป็นองค์ประกอบ (Koepsell และคณะ, 1952 และ Fu และ Robyt, 1990) และจะสังเคราะห์เดกซ์แทรนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า ดังรูป 2.8 แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของ *L. mesenteroides* 2 สายพันธุ์ในการต่อสายยาวของเมทิล-แอลฟา-ดี-กลูโคไพราโนไซด์ (ในที่นี้ทำหน้าที่เป็นตัวรับโมเลกุลของกลูโคสที่ปลดปล่อยมาจากซูโครส) (Gómez de Segura และคณะ, 2004)

ตารางที่ 2.1 ยีนที่ผลิตจากเดกซ์แทรนซูเครสและลักษณะของเดกซ์แทรนจาก *L. mesenteroides* สายพันธุ์ต่างๆ (Kang และคณะ, 2003)

สายพันธุ์	ยีน	โปรตีน	เดกซ์แทรน	ขนาด (จำนวนกรดอะมิโน)	น้ำหนักโมเลกุล (10^3 ดาลตัน)	เอกสารอ้างอิง
L. mesenteroides NRRL B-512F	*dsrS*	DSRS	5% α-(1→3), 95% α-(1→6)	1527	170	Monchois และคณะ, 1997
L. mesenteroides B-512FMCM	*fmcmds*	FMCMDS	5% α-(1→3), 95% α-(1→6)	1527	170	Ryu และคณะ, 2000
L. mesenteroides NRRL B-1299	*dsrA*	DSRA	15% α-(1→3), 85% α-(1→6)	1290	146	Monchois และคณะ, 1996
	dsrB	DSRB	5% α-(1→3), 95% α-(1→6)	1508	167	Monchois และคณะ, 1998
	dsrE	DSRE	ข้อมูลไม่แสดง	2835	313	Bozonnet และคณะ, 2002
L. mesenteroides B-742CB	*dsrB742*	DSRB742	5% α-(1→3), 95% α-(1→6)	1508	168	Kim และคณะ, 2000
L. mesenteroides NRRL B-1355	*dsrC*	DSRC	ข้อมูลไม่แสดง	1477	165	Arguello-Morales และคณะ, 2000



รูปที่ 2.8 กลไกการทำงานของเดกซ์แทรนซูเครส ต่อการสร้างสายของเดกซ์แทรนของ *L. mesenteroides* 2 สายพันธุ์ ในภาวะที่มีเมทิล-แอลฟา-ดี-กลูโคไพราโนไซด์และซูโครส (Gómez de Segura และคณะ, 2004)

เอนไซม์ 1 เดกซ์แทรนซูเครสจาก *L. mesenteroides* สายพันธุ์ B-512F

เอนไซม์ 2 เดกซ์แทรนซูเครสจาก *L. mesenteroides* สายพันธุ์ B-1299

ดังที่ได้กล่าวไปในข้างต้น ชนิดของตัวรับจะมีความเกี่ยวข้องกับการควบคุมการต่อสายยาวของเดกซ์แทรน นอกจากนี้ตัวรับแต่ละชนิดยังมีความเกี่ยวข้องกับการเกิดปฏิกิริยาข้างเคียงเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดต่างๆ ได้อีกด้วย โดยสามารถแบ่งชนิดของตัวรับที่ใช้ในการต่อสายยาวของเดกซ์แทรนตามความสามารถในการทำงานได้ดังนี้ (Bailey, 1959) คือ

1. กลุ่มของน้ำตาลมอลโทส ไอโซมอลโทส ไอโซมอลโทไทรโอส กลูโคส กาแลคโทส เมทิลแอลฟากลูโคไซด์ (methyl-α-glucoside) แลคโทส และเซลโลไบโอส (cellobiose) นอกจากทำหน้าที่เป็นตัวรับหมู่กลูโคซิลเพื่อทำการต่อสายยาวของเดกซ์แทรนแล้ว ยังมีความสามารถในการกระตุ้นการทำงานของเดกซ์แทรนซูเครสได้อีกด้วย

2. น้ำตาล ดี-อะราบิโนส (D-arabinose) และ เมลิไบโอส (melibiose) จะมีความสามารถในการกระตุ้นการทำงานของเดกซ์แทรนซูเครส แต่ไม่สามารถทำหน้าที่เป็นตัวรับหมู่กลูโคซิลได้

3. น้ำตาลฟรักโทส ฟรักโทสสามารถทำหน้าที่เป็นตัวรับหมู่กลูโคซิลได้ แต่จะมีผลในการยับยั้งแอคติวิตีของเดกซ์แทรนซูเครส

เดกซ์แทรนที่มีขนาดโมเลกุลเล็กๆ (น้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 2,000 ดาลตัน) จะมีการแตกกิ่งสาขาที่น้อยกว่าและการกระจายตัวของโมเลกุลที่แคบกว่า และยังมีลักษณะโครงสร้างเป็นรูปแท่ง แต่เดกซ์แทรนที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ขึ้น (น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงระหว่าง 2,000 ถึง 10,000 ดาลตัน) โครงสร้างจะขดกันเป็นวงใหญ่ ส่วนเดกซ์แทรนที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ (น้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 10,000 ดาลตัน) จะมีส่วนของกิ่งสาขามากกว่า ซึ่งถ้ามีสัดส่วนของพันธะไกลโคซิดิกเป็นแบบ α-1,3 มากจะยิ่งละลายน้ำได้ยาก โดยเดกซ์แทรนสามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่

1. เดกซ์แทรนที่สามารถละลายน้ำได้ (water soluble dextran, S) ซึ่งมีพันธะ α-1,6 ในปริมาณมาก ถูกสังเคราะห์โดยการทำงานของกลูโคซิลทรานสเฟอเรสที่สังเคราะห์เดกซ์แทรนพันธะ α-1,6 ปริมาณมาก (Lewicki และคณะ, 1971) และนอกจากนี้พันธะไกลโคซิดิกชนิด α-1,6 ยังสามารถแสดงออกถึงการยึดเกาะได้อีกด้วย (Ebisu และคณะ, 1974 และ Inoue และคณะ, 1988)

2. เดกซ์แทรนที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ (water insoluble dextran หรือ less soluble dextran, L) ซึ่งมีพันธะ α-1,3 ในปริมาณมาก ถูกสังเคราะห์โดยการทำงานของกลูโคซิลทรานสเฟอเรสที่สังเคราะห์เดกซ์แทรนพันธะ α-1,3 ปริมาณมาก (Guggenheim และ Newbrun, 1969)

นอกจากนี้เดกซ์แทรนยังมีความสามารถในการละลายในตัวทำละลายอื่นๆ อีก ได้แก่ เมทิลซัลฟอกไซด์ ฟอร์มาไมด์ เอทิลีนไกลคอล และกลีเซอรอล เป็นต้น เดกซ์แทรนจะไม่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายชนิดที่เป็นโมโนไฮดริกแอลกอฮอล์ (monohydric alcohol) เช่น เมทานอล เอทานอล และไอโซโพรพานอล และพวกคีโตนชนิดต่างๆ เช่น อะซีโตน และโพรพาโนน (de Belder, 2003)

ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเดกซ์แทรนและเดกซ์แทรนซูเครส

จากที่กล่าวไปแล้วว่าสายพันธุ์ของ *L. mesenteroides* ที่นำมาใช้ผลิตเดกซ์แทรน จะเป็นปัจจัยสำคัญในการควบคุมปริมาณและคุณสมบัติของเดกซ์แทรนให้มีความแตกต่างกัน และจากลักษณะของ *L. mesenteroides* แม้ว่าจุลินทรีย์ชนิดนี้จะเป็นแบคทีเรียที่ต้องการอากาศเพียงเล็กน้อยในการเจริญเติบโต (Reiter และ Oram 1982; Garvie, 1986 และ Aline, 1999) แต่ออกซิเจนก็ยังคงเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเจริญและการผลิตเดกซ์แทรนอยู่ ซึ่งมีผู้รายงานไว้ว่า การผลิตเดกซ์แทรนซูเครสในภาวะที่มีการให้อากาศจะได้ผลผลิตเดกซ์แทรนที่มากกว่า (Koepsell และ Tsuchiya, 1952; Tsuchiya และคณะ, 1952 และ Alsop, 1983) นอกจากนี้การควบคุมอุณหภูมิและค่าความเป็นกรดเบสของอาหารเลี้ยงเชื้อ จะมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *L. mesenteroides* จะอยู่ในช่วง 20-45°ซ (Chen และ Chou, 1993) และอุณหภูมิในการผลิตเดกซ์แทรนซูเครสจะอยู่ในช่วง 23-26°ซ (Santos และคณะ , 2000) และค่าความเป็นกรดเบสที่เหมาะสมต่อการผลิตเดกซ์แทรนจะอยู่ในช่วง 4.0-6.0 (Hehre และ Sugg, 1942 และ Hehre, 1946) นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตเดกซ์แทรน เช่น เวลาในการผลิตเดกซ์แทรน ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และแร่ธาตุ อาทิ ฟอสเฟต และ $CaCl_2$ โดยมีการรายงานว่าไอออนของ Ca^{2+} จะทำหน้าที่เป็นโคแฟคเตอร์ให้แก่เดกซ์แทรนซูเครส (Reiter และ Oram, 1982; Garvie, 1986 และ Lazić และคณะ, 1991) โดยไอออนของโลหะจะมีส่วนช่วยให้กลไกเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์เป็นไปอย่างสมบูรณ์ และยังสามารถทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ให้แก่อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อรักษาค่าความเป็นกรดเบสให้มีความเหมาะสมต่อเอนไซม์อีกด้วย (Rodrigues และคณะ, 2003)

การนำเดกซ์แทรนมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรม

ปัจจุบันมีการผลิตเดกซ์แทรนในรูปแบบทางการค้ามากมาย โดยสามารถเลือกผลิตภัณฑ์เดกซ์แทรนได้ตามขนาดของโมเลกุลและการใช้งาน อาทิ เดกซ์แทรนที-2000 (น้ำหนักโมเลกุล 2,000,000) เดกซ์แทรนที-70 (น้ำหนักโมเลกุล 70,000) เดกซ์แทรนที-40 (น้ำหนักโมเลกุล 40,000) เดกซ์แทรนที-20 (น้ำหนักโมเลกุล 20,000) และอนุพันธ์ต่างๆ ของเดกซ์แทรน เป็นต้น โดยเดกซ์แทรนที่ผลิตในทางการค้าทั้งหมด สังเคราะห์จากแบคทีเรีย *L. mesenteroides* NRRL B512F

(Barker และ Ajongwen, 1991) ซึ่งเดกซ์แทรนและอนุพันธ์ของเดกซ์แทรนสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรม ดังนี้

1. เดกซ์แทรนเกรดอุตสาหกรรมที่ใช้เป็นสารปรุงแต่งในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น เติมในผลิตภัณฑ์ไอศกรีม เบเกอรี่ แยม หรือลูกกวาด ช่วยให้เกิดความหนานุ่มของเนื้อสัมผัส หรือเป็นสารเพิ่มความคงตัว (stabilizer) ให้แก่อาหาร โดยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) และการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของเนื้อสัมผัส ความชื้น และรสชาติของอาหาร นอกจากนี้ยังใช้กับโปรตีนในขั้นตอนไลโอฟิไลเซชัน (lyophillization) ได้อีกด้วย (Hardin, 1991; Sutherland, 1996; de Belder, 2003 และ Ul Qader และคณะ, 2005)

2. เดกซ์แทรนที่ใช้ในทางการแพทย์ ส่วนใหญ่มักนำเดกซ์แทรนไปใช้ในการเพิ่มปริมาตรของโลหิต (blood plasma extender) ในผู้ป่วย (Kim และ Day, 1994 และ Ul Qader และคณะ, 2005) โดยไม่เกิดผลกระทบในการรบกวนระบบแอนติเจน-แอนติบอดีที่ก่อให้เกิดการตกตะกอนของเลือด และมีการนำเดกซ์แทรนซัลเฟต (dextran sulfate) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของเดกซ์แทรนมาใช้แทนเฮพาริน (heparin) ในการต้านการแข็งตัวของเลือด (anti-coagulant) ซึ่งการใช้เฮพารินนั้นจะมีผลข้างเคียงต่อผู้ป่วยจึงไม่นิยมใช้ (Sutherland, 1996; Alsop, 1983 และ Kim และ Day, 1994) นอกจากนี้ยังมีการรายงานถึงการนำอนุพันธ์ของเดกซ์แทรน มาใช้รักษาบาดแผลได้อีกด้วย (Sutherland, 1996)

เดกซ์แทรนที่ใช้ในทางการแพทย์หรือที่เรียกว่า clinical dextran มักจะมีข้อจำกัดในเรื่องของน้ำหนักโมเลกุล ซึ่งน้ำหนักโมเลกุลของเดกซ์แทรนที่ใช้ในทางการแพทย์ส่วนใหญ่อยู่ในช่วงประมาณ 50,000-100,000 ดาลตัน (Koepsell และคณะ, 1952) โดยเดกซ์แทรนที่ผลิตจาก *L. mesenteroides* สายพันธุ์ NRRL B-512F จะมีน้ำหนักโมเลกุลที่กระจายกันอยู่ในช่วงกว้างตั้งแต่หลายร้อยไปจนถึงหลายล้านดาลตัน ซึ่งในปัจจุบันการผลิตเดกซ์แทรนทางการแพทย์จะมีการย่อยสลายเดกซ์แทรนบางส่วนด้วยกรดและเอนไซม์ เพื่อให้ได้น้ำหนักโมเลกุลที่เหมาะสมที่จะนำไปประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ต่อไป (Mehvar, 2000)

นอกจากนี้ ยังมีเดกซ์แทรนสายสั้นๆ (น้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 20,000 ดาลตัน) (Monsan และคณะ, 1987) ได้แก่ ไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ (isomaltooligosaccharide) และโอลิโกเดกซ์แทรน (oligodextran) ซึ่งโมเลกุลเหล่านี้จะทำหน้าที่เป็นพรีไบโอติกช่วยในการเจริญของแบคทีเรียในลำไส้ชนิดโพรไบโอติก เช่น *Lactobacillus* sp. และ *Bifidobacterium* sp.

เพื่อช่วยในเรื่องของการขับถ่ายของร่างกาย (Tomomatsu, 1994; Gibson และ Roberfroid, 1995 และ Monsan และ Paul, 1995)

3. เดกซ์แทรนที่ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เช่น ใช้ผสมลงในผลิตภัณฑ์ครีมทาผิว และยาขี้ผึ้งต่างๆ ซึ่งเดกซ์แทรนจะทำหน้าที่รักษาความชื้นได้เป็นอย่างดี (de Belder, 2003 และ Ul Qader และคณะ, 2005)

4. ครอสลิงค์เดกซ์แทรน (cross linked dextran) เป็นเดกซ์แทรนที่นำมาใช้ประโยชน์ในการแยกและทำบริสุทธิ์สารต่างๆ เช่น ใช้ในการแยกเอนไซม์หรือสารประกอบประเภทโปรตีน หรือสารประกอบทางการแพทย์ต่างๆ ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี โดยเดกซ์แทรนที่ใช้ทำหน้าที่เป็นเฟสคงที่ (stationary phase) ซึ่งรู้จักกันดีในนามทางการค้าว่า เซฟาเดกซ์ เจล (sephadex gel) (Sutherland, 1996 และ Ul Qader และคณะ, 2005)

5. เดกซ์แทรนสามารถใช้ในอุตสาหกรรมการขุดเจาะน้ำมัน โดยใช้เป็นสารหล่อลื่นบริเวณหัวเจาะน้ำมัน และด้วยคุณสมบัติของเดกซ์แทรนที่มีน้ำหนักโมเลกุลมาก สามารถนำมาประยุกต์ในการใช้เก็บเกี่ยวน้ำมันโดยใช้หลักในการแทนที่ ทำให้น้ำมันลอยตัวขึ้นมาส่วนบนจึงสามารถเก็บเกี่ยวน้ำมันได้สะดวกขึ้น (Jenneman และคณะ, 1985; Lappan และ Fogler, 1994; Vandevivere และ Baveye, 1992 และ Kim และคณะ, 2000)

แนวทางการแก้ไขและป้องกันการเกิดเดกซ์แทรนในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาล

โดยทั่วไปโรงงานอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาล จะมีวิธีในการกำจัดเดกซ์แทรนอย่างง่าย โดยการชำระล้างทำความสะอาดสายกระบวนการผลิต เพื่อป้องกันการเกาะยึดของเดกซ์แทรนซึ่งเป็นแหล่งสะสมของแบคทีเรียอื่นๆ โดยการใช้ร่วมกับความร้อน สารเคมี และสารชีวฆาต (biocide) ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ผลิตเดกซ์แทรน หรือมีการควบคุมภาวะการผลิตไม่ให้เอื้ออำนวยต่อจุลินทรีย์ในการผลิตเดกซ์แทรน ซึ่งวิธีต่างๆ ดังกล่าวอาจมีผลข้างเคียงต่อผลิตภัณฑ์ ซึ่งอาจทำให้คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำตาลเปลี่ยนแปลงไป หรือมีสารเคมีตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์ และอาจยากหรือเพิ่มความสิ้นเปลืองต่อการควบคุมภาวะการผลิต

ปัจจุบันจึงมีการใช้เดกซ์แทรนเนส ควบคุมปริมาณเดกซ์แทรนในกระบวนการผลิตน้ำตาล จากคุณสมบัติของเดกซ์แทรนเนส จะมีความจำเพาะในการสลายเดกซ์แทรนที่มีขนาดโมเลกุล

ใหญ่ๆ ให้กลายเป็นเดกซ์แทรนหรือหน่วยย่อยของน้ำตาลที่มีขนาดเล็กลง (Inkerman และ James, 1976 และ Clarke, 1997) วิธีนี้ถือเป็นวิธีทางชีวภาพที่มีความเหมาะสมและมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณเดกซ์แทรนได้เป็นอย่างดี เนื่องจากมีความปลอดภัย ภาวะที่ใช้ไม่รุนแรง และเอนไซม์มีความจำเพาะต่อการสลายเดกซ์แทรน

แนวทางการแก้ไขและการป้องกันการเกิดฟันผุ

การป้องกันฟันผุสามารถทำได้หลายวิธี ทั้งวิธีทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ ซึ่งการควบคุมทางกายภาพจากลักษณะนิสัยในการทำความสะอาดช่องปากส่วนบุคคล จะเป็นวิธีที่ได้ผลดีที่สุด และโดยทั่วไปอุปกรณ์ทำความสะอาดช่องปากมักจะประกอบไปด้วยสารต่างๆ ที่ป้องกันฟันผุ หรือสารต่อต้านจุลินทรีย์ ซึ่งจะช่วยในการเคลือบฟันและร่องฟัน รวมทั้งสามารถช่วยในการควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ได้อีกด้วย (Kurihara และคณะ, 1999 และ Katsura และคณะ, 2001) นอกจากนี้มีการรายงานถึงการใช้สารให้ความหวานอื่นๆ แทนซูโครส กลูโคส หรือฟรักโทส (sugar substitutes) อาทิ ไซลิทอล (xylitol) แมนนิทอล (mannitol) และซอร์บิทอล (sorbitol) เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้จะไม่ทำให้ฟันผุ หรืออาจใช้สารปฏิชีวนะหรือวัคซีนในการยับยั้งจุลินทรีย์ในช่องปาก (Kurihara และคณะ, 1999 และ Katsura และคณะ, 2001) แต่วิธีนี้ไม่นิยมใช้กันมากนัก เนื่องจากความสามารถในการฆ่าเชื้อของยามีวงกว้างเกินไปอาจมีผลทำลายจุลินทรีย์ชนิดอื่นด้วย และอาจก่อให้เกิดปัญหาในการดื้อยาตามมา จากที่ได้กล่าวไปข้างต้นแล้วว่าเดกซ์แทรนเป็นสาเหตุสำคัญในการยึดเกาะของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ที่บริเวณผิวฟันจนกลายเป็นคราบจุลินทรีย์ ปัจจุบันจึงมีการใช้เดกซ์แทรนเนสในการควบคุมปริมาณเดกซ์แทรนที่เกิดขึ้น (Marotta และคณะ, 2002) ซึ่งการใช้เดกซ์แทรนเนสนับว่าเป็นวิธีทางชีวภาพ มีความปลอดภัยกว่าการใช้สารเคมี มีความจำเพาะเจาะจงต่อการสลายเดกซ์แทรน และนอกจากนี้ยังมีการรายงานการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการนำเดกซ์แทรนเนส มาทดลองใช้ผสมลงในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดช่องปาก และมีแนวโน้มที่สามารถลดปริมาณของเดกซ์แทรนได้เป็นอย่างดี

จากที่ได้กล่าวไปในเบื้องต้นนั้น จะเห็นได้ว่าปัจจุบันเดกซ์แทรนเนสเป็นแนวทางที่สำคัญในการนำมาใช้แก้ปัญหาเดกซ์แทรนในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาล และการเกิดฟันผุ ดังนั้นการศึกษาคุณสมบัติของเดกซ์แทรนเนส ตลอดจนการปรับปรุงการผลิตเดกซ์แทรนเนสจึงมีความสำคัญตามไปด้วย

หอสมุดกลาง ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เดกซ์แทรนเนส (dextranase)

เดกซ์แทรนเนสเป็นเอนไซม์ที่สามารถสลายพันธะบนสายของเดกซ์แทรนได้ และเป็นเอนไซม์ที่ต้องการการชักนำ (inducible enzyme) จากเดกซ์แทรน (Fukumoto และคณะ, 1971; Simonson และ Liberta, 1975 และ Madhu และ Prabhu, 1984) โดยเดกซ์แทรนจะเป็นสารชักนำให้เกิดการแสดงออกของยีน *dexA* ในระดับการถอดรหัสยีน (transcriptional level) ให้เกิดการสร้างเดกซ์แทรนเนส (García และ Rodríguez, 2000)

เดกซ์แทรนเนสมีหน้าที่การสลายพันธะที่หลากหลาย จึงทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้แตกต่างกันออกไป ซึ่งอาจจะให้ผลิตภัณฑ์ออกมาชนิดเดียว หรือหลายชนิดก็ได้ โดยส่วนใหญ่จะเกิดจากการเปลี่ยนซับสเตรตไปเป็นกลูโคสโดยมีอัตราส่วนของการสลายต่างกัน เนื่องจากเดกซ์แทรนจะมีสัดส่วนของพันธะไกลโคซิดิกที่หลากหลาย ทั้งชนิดที่เป็นเส้นตรงและเป็นกิ่งสาขา และเดกซ์แทรนเนสยังสามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิดตามความจำเพาะในการสลายพันธะ ได้แก่

1. เดกซ์แทรนเนส (α-1,6-D-glucan-6-glucanohydrolase, E.C. 3.2.1.11) ซึ่งจำเพาะต่อพันธะ α-1,6 บนสายเดกซ์แทรน (endodextranase)

2. เดกซ์แทรนเนส (α-1,3-D-glucan-3-glucanohydrolase, E.C. 3.2.1.59) ซึ่งจำเพาะต่อพันธะ α-1,3 บนสายเดกซ์แทรน (endo-α-1,3-glucanase)

การทำงานของเดกซ์แทรนเนสในการสลายพันธะของเดกซ์แทรนสามารถทำงานได้ 2 รูปแบบ (Walker, 1978) คือ

1. เอกโซเดกซ์แทรนเนส (exo-dextranase) เป็นเดกซ์แทรนเนสที่ย่อยสลายพันธะที่เชื่อมโมเลกุลของกลูโคส เป็นการตัดทีละโมเลกุลของกลูโคสจากส่วนปลายรีดิวซ์ของสายเดกซ์แทรน ผลิตภัณฑ์ที่ได้ส่วนใหญ่ คือ กลูโคส และไอโซมอลโทส จุลินทรีย์ที่สร้างเอกโซเดกซ์แทรนเนส ได้แก่ แบคทีเรีย *S. mutans*, *Achromobacter* sp., *Arthrobacter globiformis* T6 และยีสต์ *Lipomyces lipofer* เป็นต้น (Sutherland, 1996 และ Wynter, 1997)

2. เอนโดเดกซ์แทรนเนส (endo-dextranase) เป็นเดกซ์แทรนเนสที่ย่อยสลายพันธะไกลโคซิดิกที่จุดใดจุดหนึ่งในสายของเดกซ์แทรน ทำให้ได้พอลิเมอร์ของน้ำตาลสายสั้นๆ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายอาจเป็นโอลิโกเมอร์ (oligomer) ไดเมอร์ (dimer) หรือโมโนเมอร์ (monomer) ของกลูโคส เช่น ไอโซมอลโทส, ไอโซมอลโทเททราโอส (isomaltetraose) และไอโซมอลโทเพนทะโอส (isomaltopentaose) เป็นต้น ซึ่งจะเกิดการย่อยสลายอย่างช้าๆ ด้วยเอกโซเดกซ์แทรนเนสต่อไปจนได้ผลิตภัณฑ์เป็นโมเลกุลที่เล็กลง จุลินทรีย์ที่สร้างเอนโดเดกซ์แทรนเนส ได้แก่ แบคทีเรีย *Athrobacter globiformis*, *Pseudomonas* sp., *S. mutans* และรา *Chaetomium gracile*, *Cladosporium resinae* และ *Flavobacterium* sp. เป็นต้น ซึ่งจุลินทรีย์แต่ละชนิดก็จะสร้างเอนโดเดกซ์แทรนเนส ที่จำเพาะต่อพันธะแตกต่างกันไปอีกด้วย (Sutherland, 1996 และ Wynter, 1997)

จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเดกซ์แทรนเนส

เดกซ์แทรนเนสสามารถพบได้ในแหล่งต่างๆ เช่น ในลำไส้ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมบางชนิด (Sidebotham, 1974) และจากจุลินทรีย์ต่างๆ ทั้งรา (Fukumoto และคณะ, 1971; Simonson และ Liberta, 1975 และ Madhu และ Prabhu, 1984) ยีสต์ (Koenig และ Day, 1988) แอคติโนมัยซิส (Actinomyces) และแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบหลายชนิด (Lawman และ Bleiweis, 1991 และ Okushima และคณะ, 1991) ดังตารางที่ 2.2 และ 2.3 แสดงถึงจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ชนิดเอนโดเดกซ์แทรนเนส และเอกโซเดกซ์แทรนเนสตามลำดับ

ตารางที่ 2.2 จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนโดเดกซ์แทรนเนส (3.2.1.11)

(Khalikova และคณะ, 2005 และ http://www.brenda.uni-koeln.de, Cologne University BioInformatics Center)

จุลินทรีย์	เอกสารอ้างอิง
แบคทีเรีย	
Arthrobacter globiformis T-3044	Oguma และคณะ, 1996
Arthrobacter sp. CB-8	Okushima และคณะ, 1991
Avena sativa	Heyn, 1981
Bacillus circulans	Okami และคณะ, 1980
Bacteroides oralis	Takahashi, 1982
Cellvibrio fulva	Fischer และ Stein, 1960
Cytophaga sp.	Janson และ Porath, 1966
Flavobacterium sp. M-73	Kobayashi และคณะ, 1983
Hordeum vulgare	Manners และ Rowe, 1968
Lactobacillus bifidus	Fischer และ Stein, 1960
Paenibacillus illinoisensis	Khalikova และคณะ, 2003
Pseudomonas sp.	Covacevich และ Richards, 1979
	Richards และ Streamer, 1978
Streptococcus mutans Ingbritt	Igarashi และคณะ, 1995
Streptococcus sobrinus	Wanda และ Curtiss III, 1994
	Wellington และคณะ, 1994
	Barett และคณะ, 1987
Termoanaerobacter sp.	Wynter และคณะ, 1997
รา	
Aspergillus carneus	Hiraoka และคณะ, 1973
Chaetomium gracile	Wynter และคณะ, 1995
	Kobayashi และคณะ, 1987
	Hattori และคณะ, 1981

ตารางที่ 2.2 จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนโดเดกซ์แทรนเนส (3.2.1.11) (ต่อ)

(Khalikova และคณะ, 2005 และ http://www.brenda.uni-koeln.de, Cologne University BioInformatics Center)

จุลินทรีย์	เอกสารอ้างอิง
รา	
Chaetomium thermophilum var. coprophilum ATCC28076	Wynter และคณะ, 1995
Chaetomium thermophilum var. coprophilum ATCC58195	Wynter และคณะ, 1995
Chaetomium virescens ATCC32319	Wynter และคณะ, 1995
Fusarium moniliforme	Simonson และคณะ, 1975
Fusarium sp.	Shimizu และคณะ, 1998
Paecilomyces lilacinus	Galvez-Mariscal และ Lopez-Munguia, 1991
	Lee และ Fox, 1985
Penicillium aculeatum	Shukla และคณะ, 1989
	Madhu และ Prabhu, 1985
Penicillium funiculosum	Abdel-Naby และคณะ, 1999
	Wynter และคณะ, 1995
	Sugiura และคณะ, 1973
	Shukla และคณะ, 1989
Penicillium lilacinum	Das และ Dutta, 1996
	Wynter และคณะ, 1995
Penicillium luteum	Hiraoka และคณะ, 1973
	Fukimoto และคณะ, 1971
Penicillium notatum	Pleszczynska และคณะ, 1996
	Pleszczynska และคณะ, 1997

ตารางที่ 2.2 จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนโดเดกซ์แทรนเนส (3.2.1.11) (ต่อ)

(Khalikova และคณะ, 2005 และ http://www.brenda.uni-koeln.de, Cologne University BioInformatics Center)

จุลินทรีย์	เอกสารอ้างอิง
รา	
Penicillium purpurogenum	Shukla และคณะ, 1989
Sporothrix schenckii	Arnold และคณะ, 1998
ยีสต์	
Lipomyces starkeyi	Koenig และ Day, 1989
	Webb และ Spencer-Martins, 1983
แอคติโนมัยซิส	
Actinomyces israelii	Staat และ Schachtele, 1975

ตารางที่ 2.3 จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอกโซเดกซ์แทรนเนส (Khalikova และคณะ, 2005)

จุลินทรีย์	เอกสารอ้างอิง
แบคทีเรีย	
Arthrobacter globiformis I42	Okada และ Unno, 1989
Bacteroides oralis	Takahashi, 1982
	Igarashi และ Yamamoto, 1988
Pseudomonas sp.	Covacevich และ Richards, 1979
Streptococcus mitis	Linder และ Sund, 1981
ยีสต์	
Lipomyces lipofer	Ramos และ Spencer-Martins, 1983

ตารางที่ 2.4 จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนโด-1,3-แอลฟา-กลูแคนเนส

(http://www.brenda.uni-koeln.de, Cologne University BioInformatics Center)

จุลินทรีย์	เอกสารอ้างอิง
แบคทีเรีย	
Bacillus circulans	Meyer และ Phaff, 1980
	Matsuda และคณะ, 1997
Bacteroides oralis	Takahshi และคณะ, 1985
Pseudomonas sp.	Simonson และคณะ, 1982
รา	
Flavobacterium sp.	Ebisu และคณะ, 1975
Penicillium purpurogenum	Fuglsang และคณะ, 2000
Trichoderma harzianum	Stephen และ Nasim, 1981
	Quivey, 1993
	Fuglsang และคณะ, 2000
Trichoderma viride	Hasegawa และ Nordin, 1969
แอคติโนมัยซิส	
Streptomyces chartreusis	Takehara และคณะ, 1981
Streptomyces sp.	Imai และคณะ, 1977

ราเป็นจุลินทรีย์ที่สำคัญในการผลิตเดกซ์แทรนเนสได้ในทางเชิงพาณิชย์ (Sidebotham, 1974) และสามารถผลิตได้ในปริมาณที่สูงกว่าและมีประสิทธิภาพมากกว่าแบคทีเรียและยีสต์ (Walker, 1978 และ Sun และคณะ, 1988) โดยราที่สามารถผลิตเดกซ์แทรนเนสได้จะเป็นราในกลุ่มของ *Penicillium* sp. เช่น *P. minioluteum* และ *P. funiculosum* 258 เป็นต้น (de Belder, 2003) แต่เอนไซม์จากราไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตเครื่องอุปโภคบริโภค เนื่องจากเดกซ์แทรนเนสที่ราผลิตได้นั้นมักปนเปื้อนด้วยสารพิษแอฟลาทอกซิน (aflatoxin) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง และยังมีส่วนประกอบของผนังเซลล์จากรา เช่น ส่วนของกลูแคน ซึ่งอาจก่อให้เกิดการแพ้ต่อสิ่งมีชีวิตได้ (Leach, 1969) ปัจจุบันจึงหันมาศึกษาวิจัยการใช้แบคทีเรียหรือยีสต์เพื่อ

ผลิตเดกซ์แทรนเนสสำหรับใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตเครื่องอุปโภคบริโภคมากขึ้น (Kaneko และคณะ, 1976 และ Apaire และคณะ,1983)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การเจริญของ *L. mesenteroides*

สมบัติทางสรีรวิทยาของ *L. mesenteroides* กระบวนการสังเคราะห์เดกซ์แทรนหรือการสร้างกรดของแบคทีเรียต่างมีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตทั้งสิ้น ดังนั้นจึงมีผู้ศึกษาการเจริญของ *L. mesenteroides* ในภาวะที่ไม่มีการสังเคราะห์เดกซ์แทรน โดยการเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารที่ไม่มีการเติมซูโครส การเจริญของ *L. mesenteroides* สามารถตรวจสอบได้ง่าย ด้วยวิธีการนับจำนวนเซลล์ (viable cell count) การชั่งน้ำหนักเซลล์แห้ง (dry weight) และการวัดความขุ่น (turbidity) แต่ในภาวะที่มีการเติมซูโครส พบว่าส่วนของเดกซ์แทรนที่แบคทีเรียสังเคราะห์ขึ้น จะเกาะยึดกับเซลล์ของแบคทีเรียและปะปนอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงทำให้การศึกษาการเจริญของเซลล์โดยวิธีการวัดความขุ่นของน้ำเลี้ยงเกิดความผิดพลาดได้ ดังนั้น Plihon และคณะ (1995) จึงศึกษาการวัดการเจริญของ *L. mesenteroides* จากการนับจำนวนของเซลล์ที่มีชีวิตโดยใช้ฮีมาไซโทมิเตอร์ โดยพบว่าส่วนของเดกซ์แทรนที่ถูกสร้างขึ้นจะไม่มีผลต่อการนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต และมีข้อได้เปรียบในเรื่องของเวลาที่ใช้ในการนับเซลล์ ซึ่งสามารถนับจำนวนเซลล์ที่เกิดขึ้นได้จริงในเวลานั้น

การเปลี่ยนแปลงผนังเซลล์ในขณะที่มีการสร้างเดกซ์แทรนของ *L. mesenteroides*

จากการที่โครงสร้างทางเคมีและคุณสมบัติของเดกซ์แทรนที่สร้างจาก *Leuconostoc* sp. จะแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ ซึ่งเดกซ์แทรนจะมีทั้งส่วนที่ละลายน้ำได้และส่วนที่ละลายน้ำได้น้อยมากหรือไม่สามารถละลายน้ำได้ โดย Broker (1977) ได้ศึกษาวิจัยถึงการเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์ในขณะที่มีการสร้างเดกซ์แทรนของ *Leuconostoc* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าในภาวะที่มีกลูโคสช่วง 2 ชั่วโมงแรก ส่วนที่หุ้มผิวของเซลล์ด้านนอกจะมีความหนามากขึ้นเรื่อยๆ และเมื่อเวลาครบ 18 ชั่วโมง จะพบว่าจุลินทรีย์นี้มีการสร้างแคปซูลขนาดใหญ่ที่สะสมเดกซ์แทรนส่วนที่ไม่สามารถละลายน้ำไว้ภายใน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้มีความเกี่ยวข้องกับการจับกันของเซลล์สารประกอบเชิงซ้อนของเดกซ์แทรน และเดกซ์แทรนซูเครส (cell bound dextran-

dextransucrase complex) สำหรับบางเซลล์ที่ไม่มีการสร้างแคปซูลจะมีความเกี่ยวข้องกับการสร้างเดกซ์แทรนที่สามารถละลายน้ำได้

การผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ เช่น กลูแคน และเดกซ์แทรน

Dunican และ Seeley (1963) ศึกษาถึงผลของอุณหภูมิที่มีต่อการผลิตเดกซ์แทรนซูเครสโดย *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ RWM-13 พบว่าการผลิตเดกซ์แทรนซูเครสจะลดลงเมื่อมีการเพิ่มอุณหภูมิในการเลี้ยงเชื้อสูงกว่า 37°ซ ถึงแม้ว่าการเจริญของ *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ RWM-13 สามารถเจริญได้ถึงอุณหภูมิ 42°ซ ก็ตาม จึงสรุปได้ว่าอุณหภูมิมีผลต่อการผลิตเดกซ์แทรนซูเครสโดย *Lactobacillus* sp.

Schwartz และ Bodie (1984) ได้ศึกษาการผลิตเดกซ์แทรนจาก *L. mesenteroides* ATCC 14935 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เสริมด้วยซูโครสและหางนม (whey-sucrose broths) เพื่อปรับปรุงให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักหางนมซึ่งมีส่วนประกอบของน้ำตาลแลคโทส อยู่ในปริมาณถึง 70% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร มีคุณสมบัติที่สามารถใช้เป็นสารเพิ่มความคงตัวคล้ายกับเดกซ์แทรนได้ ซึ่งเป็นแนวทางในการนำหางนมที่ได้จากโรงงงานอุตสาหกรรมนมมาใช้ให้เกิดประโยชน์

Karthikeyan และคณะ (1996) ได้ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเดกซ์แทรนโดยใช้วิธีการหมักแบบแบช (batch culture fermentation) พบว่าสารอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตเดกซ์แทรนนั้นประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส ยีสต์สกัด และไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) ปริมาณ 300 10 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และพบว่าค่าความเป็นกรดเบสและอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 8.3 และ 23°ซ และได้ผลผลิตเดกซ์แทรนจากการหมักด้วยวิธีนี้เป็น 154 มิลลิกรัมต่อลิตร

Kim และคณะ (1999a) ได้ศึกษาปฏิกิริยาของเดกซ์แทรนซูเครสจาก *L. mesenteroides* สายพันธุ์ B-742CBM โดยการใช้คาร์โบไฮเดรตชนิดต่างๆ มาเป็นตัวรับน้ำตาลกลูโคสที่ปลดปล่อยออกมาเพื่อต่อสายยาวให้แก่พอลิแซ็กคาไรด์ โดยใช้แอลฟาเซลลูโลส (α-cellulose) เป็นตัวรับ พบว่าคุณสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้แตกต่างไปจากเซลลูโลส โดยสามารถผลิตได้ทั้งกลูแคนที่สามารถละลายน้ำได้และละลายน้ำไม่ได้ และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างการไฮโดรไลซ์พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้และเซลลูโลสด้วยเอนโดเดกซ์แทรนเนสและเซลลูเลส พบว่าผลผลิตจากการย่อยสลายนั้นมีความแตกต่างกันไป จึงสรุปได้ว่าพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้มีคุณสมบัติแตกต่างไปจากแอลฟาเซลลูโลสที่ใช้เป็นตัวรับ

Lopretti และคณะ (1999) ศึกษาถึงผลของอัตราส่วนระหว่างแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน และผลของการเติมน้ำตาลชนิดต่างๆ เช่น แลคโทส กาแลคโทส และมอลโทส ในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการผลิตเดกซ์แทรนซูเครสของ *L. mesenteroides* NRRL B512(f) พบว่าการผลิตเอนไซม์จะลดลงเมื่อมีการลดอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจน ส่วนผลของการเติมน้ำตาลชนิดต่างๆ พบว่าการเติมน้ำตาลแลคโทสจะส่งผลต่อการยับยั้งการผลิตเอนไซม์ ในขณะที่กาแลคโทสจะไม่เกิดการยับยั้งและยังให้ผลผลิตที่ไม่แตกต่างจากการใช้ซูโครส แต่จะมีอัตราในการเกิดผลิตภัณฑ์ต่างกัน ส่วนน้ำตาลมอลโทสจะช่วยในการผลิตเอนไซม์ได้

Santos และคณะ (2000) ได้ศึกษาการผลิตเดกซ์แทรนของ *L. mesenteroides* NRRL B512(f) โดยใช้วิธีการหมักทั้งแบบแบชและแบบต่อเนื่อง จากนั้นศึกษาถึงผลของอุณหภูมิ (20-40°ซ) ค่าความเป็นกรดเบส (5.5 และ 6.7) และความเข้มข้นของซูโครส (10-120 กรัมต่อลิตร) พบว่าการเจริญของเซลล์จะไม่ถูกยับยั้งเมื่อใช้ความเข้มข้นของซูโครสมากขึ้น แต่ความเข้มข้นของซูโครสที่มากกว่า 40 กรัมต่อลิตรขึ้นไป จะมีผลทำให้การนำผลผลิตออกจากเซลล์ยากขึ้น จากการศึกษาถึงรูปแบบทางจลนพลศาสตร์ในการผลิตเดกซ์แทรน พบว่าที่ค่าความเป็นกรดเบสเท่ากับ 5.5 จะให้แอคติวิตีของเดกซ์แทรนซูเครสและการเจริญของแบคทีเรียสูงที่สุด

Ul-Qader และคณะ (2001) ได้ศึกษาการผลิตเดกซ์แทรนจากการคัดแยกสายพันธุ์ใหม่ของ *L. mesenteroides* ที่ได้จากพืชผักในท้องตลาด ได้เป็น *L. mesenteroides* สายพันธุ์ PCSIR-3 พบว่าเดกซ์แทรนที่ผลิตจากสายพันธุ์นี้มีความแตกต่างไปจากเดกซ์แทรนที่ได้จากสายพันธุ์ดั้งเดิม NRRL B512F โดยในอาหารเลี้ยง *L. mesenteroides* สายพันธุ์ PCSIR-3 จะต้องมีการเติมแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) เพื่อให้แบคทีเรียผลิตเดกซ์แทรนได้ในปริมาณมาก นอกจากนี้ยังปรับส่วนผสมของอาหารเลี้ยงเชื้อให้เหมาะสมกับการผลิตเดกซ์แทรนอีกด้วย พบว่าเมื่อความเข้มข้นของซูโครสมากขึ้นทำให้ปริมาณการผลิตเดกซ์แทรนเพิ่มมากขึ้นด้วย แต่เนื่องจากค่าความเป็นกรดเบสที่ลดลงในช่วงระยะหลังจะมีผลทำให้การผลิตเดกซ์แทรนลดลง ซึ่งเมื่อศึกษาถึงรูปแบบของการผลิตเดกซ์แทรนเปรียบเทียบกันระหว่างสายพันธุ์ NRRL B-512F และสายพันธุ์ PCSIR-3 พบว่ามีการผลิตเดกซ์แทรนมากที่สุดที่ชั่วโมงที่ 12 และชั่วโมงที่ 18 ตามลำดับ และต่อมาในปี 2005 Ul-Qader และคณะ ได้ศึกษาถึงสายพันธุ์ใหม่ที่คัดเลือกได้เปรียบเทียบกับ *L. mesenteroides* สายพันธุ์ NRRL B-512F โดยศึกษาถึงส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ ระยะเวลาในการผลิตเดกซ์แทรน แอคติวิตีของเดกซ์แทรนซูเครส ความหนืดของอาหารเลี้ยงเชื้อภายหลังการผลิตเดกซ์แทรน น้ำหนักโมเลกุลของเดกซ์แทรนเมื่ออ้างอิงกับเดกซ์แทรนมาตรฐาน และความละเอียดของผลผลิตเดกซ์แทรน พบว่า *L. mesenteroides* สายพันธุ์ PCSIR-4 สามารถ

ผลิตเดกซ์แทรนได้ปริมาณสูงที่สุด ในอาหารที่มีความเข้มข้นของซูโครส 10% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และยังประกอบด้วยแหล่งไนโตรเจน และแร่ธาตุชนิดต่างๆ โดยมีแอคติวิตีของเดกซ์แทรนซูเครสสูงกว่า *L. mesenteroides* สายพันธุ์ NRRL B-512F ประมาณ 3 เท่า โดยที่น้ำเลี้ยงเชื้อภายหลังการผลิตเดกซ์แทรนของสายพันธุ์ PCSIR-9 จะมีความหนืดสูงมาก และเมื่อพิจารณาถึงความละเอียดของเดกซ์แทรน เดกซ์แทรนจากสายพันธุ์ PCSIR-4 จะมีความละเอียดมากกว่าสายพันธุ์ PCSIR-9 อันเนื่องมาจากเดกซ์แทรนจากสายพันธุ์ PCSIR-9 จะมีมวลโมเลกุลที่สูงกว่าทำให้มีความหนืดมากกว่า จึงส่งผลต่อคุณภาพของเดกซ์แทรนด้วย

Dols-Lafargue และคณะ (2001) ได้ศึกษาปัจจัยต่างๆ ได้แก่ อัตราส่วนระหว่างซูโครสและมอลโทส (ซับสเตรต/ตัวรับ) ความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมด ค่าความเป็นกรดเบส และอุณหภูมิ เป็นต้น ที่มีผลต่อการผลิต α-1,2 กลูโคโอลิโกแซ็กคาไรด์ โดยเดกซ์แทรนซูเครสจาก *L. mesenteroides* สายพันธุ์ NRRL B-1299 พบว่าอัตราส่วนระหว่างซูโครสและมอลโทสมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาข้างเคียงในการผลิตเดกซ์แทรนและลิวโครส ผลผลิตของกลูโคโอลิโกแซ็กคาไรด์ และการเกิดพันธะ α,-1,2 และการเกิดกิ่งสาขา นอกจากนี้ยังพบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดจะสามารถควบคุมการต่อสายยาวของเดกซ์แทรนได้ โดยในการทดลองจะมีการปรับค่าความเป็นกรดเบสและอุณหภูมิให้มีความเหมาะสมต่อเอนไซม์ในการเกิดปฏิกิริยาของตัวรับ

จากการที่สมบัติโดยทั่วไปของแบคทีเรียชนิดเฮเทอโรแลคติก (heterolactic fermentative bacteria) จะสามารถรีดิวซ์น้ำตาลฟรักโทสไปเป็นแมนนิทอลได้ ด้วยแมนนิทอลดีไฮโดรจีเนส (mannitol dehydrogenase) Yoo และคณะ (2001) จึงทดลองใช้วิธีการหมักแบบแบชเพื่อสร้างผลผลิต 2 ชนิด คือ เดกซ์แทรนและแมนนิทอล จาก *L. mesenteroides* สายพันธุ์ ATCC13146 โดยใช้ปริมาณน้ำตาลซูโครส และการปรับค่าความเป็นกรดเบสเริ่มต้นที่เหมาะสมของอาหารเลี้ยงเชื้อในการสร้างผลิตภัณฑ์ พบว่าผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิดมีรูปแบบในการผลิตที่สัมพันธ์กัน และมีปริมาณสูงสุดเมื่อใช้ความเข้มข้นซูโครส 10% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และค่าความเป็นกรดเบสเริ่มต้น 6.0 ซึ่งสามารถผลิตเดกซ์แทรนและแมนนิทอลได้ปริมาณเป็น 1.47 และ 0.37 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งผลผลิตทั้ง 2 ชนิดสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารและทางการแพทย์ต่างๆ ได้มากมาย

Padmanabhan และ Kim (2002) ได้ศึกษาการผลิตเดกซ์แทรนที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อซูโครสอะซิเตตบัฟเฟอร์ (sucrose-rich acetate buffer medium) โดยใช้เอนไซม์จับกับเซลล์ของ *L. mesenteroides* NRRL B-523 ในถังหมักแบบแบช พบว่าวิธีนี้สามารถผลิตเดกซ์แทรนที่ไม่มีส่วนของเซลล์ปะปนมา และจากการใช้ความเข้มข้นของซูโครสเป็น 15%

โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จะทำให้มีการสร้างเดกซ์แทรนชนิดที่ไม่ละลายน้ำมากกว่าเดกซ์แทรนชนิดที่ละลายน้ำได้

Behravan และคณะ (2003) ได้ศึกษาถึงการใช้แหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่มีราคาถูกซึ่งหาได้ทั่วไปในท้องถิ่น ได้แก่ กากน้ำตาล (molasses) ที่ได้จากโรงงานผลิตน้ำตาล และสารสกัดจากรำข้าวสาลี (wheat bran extract) ซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร โดยทดลองแปรผันความเข้มข้น เพื่อหาปริมาณของแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเดกซ์แทรนจาก *L. mesenteroides* สายพันธุ์ NRRL B-512 รวมทั้งทดลองแปรผันค่าความเป็นกรดเบสที่เหมาะสมด้วย พบว่าความเข้มข้นของกากน้ำตาลและรำข้าวสาลีที่เหมาะสม คือ 20% และ 15% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ตามลำดับ ที่ค่าความเป็นกรดเบส 7.5 ซึ่งสามารถผลิตเดกซ์แทรนได้ 9.44 กรัม/100 มิลลิลิตรของซูโครส

Kim และคณะ (2003) ได้ศึกษาทดลองถึงผลของการใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสในอาหารเลี้ยงเชื้อ ค่าความเป็นกรดเบส และอุณหภูมิต่างๆ ในการเลี้ยง *L. mesenteroides* B-512FMCM ที่มีต่อการผลิตเดกซ์แทรนขนาดโมเลกุลต่างๆ และการเกิดกิ่งสาขาของเดกซ์แทรน พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส (0.1-4.0 โมลาร์) จะส่งผลให้มีการผลิตเดกซ์แทรนที่มีขนาดโมเลกุลเล็กลง (low-molecular weight dextran; LMWD ($<10^5$ ดาลตัน)) และเกิดการสร้างกิ่งสาขาเพิ่มขึ้น สำหรับผลของอุณหภูมิในช่วงทดลอง (4-45°ซ) นั้นจะไม่มีผลต่อขนาดโมเลกุลของเดกซ์แทรนมากนัก แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้นจะมีผลต่อการเกิดกิ่งสาขาเพิ่มมากขึ้น และการปรับค่าความเป็นกรดเบสในช่วง 4.5-6.0 จะไม่มีผลทั้งขนาดโมเลกุลและการเกิดกิ่งสาขาของเดกซ์แทรน ซึ่งการควบคุมการผลิตเดกซ์แทรนให้มีลักษณะที่แตกต่างกันได้นั้น จะเป็นแนวทางสำคัญในการเลือกนำเดกซ์แทรนชนิดต่างๆ นั้นมาใช้ประโยชน์

กลไกที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเดกซ์แทรน

จากที่ได้กล่าวไปเบื้องต้นแล้วว่า กลไกการผลิตเดกซ์แทรนจะมีความเกี่ยวข้องกับเอนไซม์ ดังนั้น Mooser และ Wong (1988) จึงได้ทดลองย่อยสลายกลูโคซิลทรานสเฟอเรสจาก *S. sobrinus* ด้วยทริปซินที่ความเข้มข้นต่ำ (trypsin) ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้สามารถย่อยสลายโปรตีน โดยภายหลังการย่อยสลายและทำบริสุทธิ์ส่วนที่เหลือจากการย่อยสลายพบว่า ส่วนของ GTF-S จะไม่เกี่ยวข้องกับการพาโมเลกุลของกลูโคสที่ถูกย่อยสลายไปต่อสายยาวของเดกซ์แทรน แต่จะเกี่ยวข้องกับการเชื่อมต่อของกลูโคซิลทรานสเฟอเรสและกลูแคน

Monchois และคณะ (1998b) ได้ศึกษาส่วนประกอบของกลูโคซิลทรานสเฟอเรสที่มีผลต่อกลไกการผลิตเดกซ์แทรนชนิดต่างๆ โดยทำการตัดส่วนปลาย 3′ ของยีน DSR-S จาก *L. mesenteroides* NRRL B-512F ซึ่งเป็นส่วนปลายคาร์บอกซีของเดกซ์แทรนซูเครส พบว่าส่วนปลายคาร์บอกซีมีผลต่อการควบคุมอัตราเร็วในการสังเคราะห์เดกซ์แทรน นอกจากนี้ยังมีบทบาทสำคัญในขั้นตอนการแปลผลการสังเคราะห์เดกซ์แทรนจากบริเวณเร่งของเอนไซม์ ต่อมาในปี 1999 Monchois และคณะ ได้ทดลองทำบริสุทธิ์กลูโคซิลทรานสเฟอเรสส่วน GTF-I ของ *S. downei* สายพันธุ์ MFe28 และทำการตัดส่วนของปลายคาร์บอกซี พบว่าส่วนของ GTF-I จะไม่เกี่ยวข้องกับกลไกการผลิตกลูแคนโดยตรง ซึ่งกลไกนั้นจะต้องมีการกระตุ้นด้วยไพรเมอร์

Dols-Lafargue และคณะ (1997a) ได้ศึกษาถึงการเจริญและกระบวนการเมแทบอลิซึมในการสร้างพลังงานของ *L. mesenteroides* สายพันธุ์ NRRL B-1299 ที่มีผลต่อการผลิตเดกซ์แทรนซูเครสในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนแตกต่างกัน ได้แก่ กลูโคส ฟรักโทส และซูโครส พบว่าในภาวะที่มีอากาศกลูโคสและฟรักโทสจะถูกจุลินทรีย์ใช้ไปสร้างพลังงานเพื่อใช้ในการเจริญ แต่ในภาวะที่ไม่มีอากาศกลูโคสจะถูกใช้เพื่อการเจริญได้ดีกว่า ส่วนซูโครสจะถูกย่อยสลายกลายเป็นกลูโคสและฟรักโทส แล้วจึงนำพาเข้าสู่เซลล์เพื่อใช้ในการเจริญต่อไป โดยพบว่าการใช้ซูโครสจะมีการเจริญสูงกว่าในอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคสหรือฟรักโทส โดยเมื่อฟรักโทสที่ถูกย่อยสลายไม่ถูกนำไปใช้จะพบว่า กลไกการสร้างพลังงานจะเกิดขึ้นได้เองตามปกติ และกระบวนการผลิตเดกซ์แทรนซูเครสจะเกิดขึ้นไปพร้อมๆ กับการเจริญ และเมื่อมีการนำฟรักโทสไปใช้ จะมีการสะสมของพลังงานเกิดขึ้น ซึ่งส่งผลให้การเจริญยาวนานขึ้น แต่จะไม่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์ให้ยาวนานขึ้นตามไปด้วย ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการศึกษาการผลิตเดกซ์แทรนซูเครสต่อไป

การผลิตและปฏิกิริยาของเดกซ์แทรนซูเครส

Robyt และคณะ (1995) ได้ศึกษาถึงผลของการเติมเดกซ์แทรนที-40 (น้ำหนักโมเลกุล 40,000) ความเข้มข้นตั้งแต่ 0-300 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีต่อปฏิกิริยาของเดกซ์แทรนซูเครส โดยเปรียบเทียบระหว่างเอนไซม์บริสุทธิ์ที่ได้จาก *S. mutans* (40 mIU) และ *L. mesenteroides* B-512FMC (20 และ 75 mIU) และใช้น้ำตาลซูโครสที่ติดฉลากด้วยคาร์บอน-14 (^{14}C-sucrose) พบว่าเดกซ์แทรนที-40 สามารถกระตุ้นปฏิกิริยาของเดกซ์แทรนซูเครสได้ โดยจะเห็นได้จากปริมาณกลูโคสที่เพิ่มขึ้นต่อหน่วยเวลา ซึ่งได้จากการนับโดยเครื่องซินทิลเลชันสเปกโทรมิเตอร์ (scintillation spectrometer) และจากการเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์บริสุทธิ์ของ *L.*

mesenteroides B-512FMC จาก 20 เป็น 75 mIU พบว่ามีปริมาณกลูโคสเพิ่มมากขึ้นจากเดิมถึง 3.8 เท่า

การผลิตเดกซ์แทรนที่ใช้ในทางการแพทย์ ไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ และ โอลิโกเดกซ์แทรน

ดังที่ได้กล่าวไปในเบื้องต้น เดกซ์แทรนที่ใช้ในทางการแพทย์รวมไปถึงไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ หรือโอลิโกเดกซ์แทรนชนิดต่างๆ นั้น จะมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงที่เหมาะสม ซึ่งในปัจจุบันมีรายงานถึงการใช้เดกซ์แทรนเนสช่วยในการควบคุมการผลิตเดกซ์แทรน ให้มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงที่ต้องการ

Kim และ Day (1994) ได้ทดลองเลี้ยงจุลินทรีย์ผสมระหว่าง *Lipomyces starkeyi* และ *L. mesenteroides* พร้อมทั้งควบคุมภาวะในการเจริญเติบโต และการผลิตเอนไซม์ที่เหมาะสมเพื่อผลิตเดกซ์แทรนสำหรับนำไปใช้ทางการแพทย์ (น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 75,000 ดาลตัน) ซึ่งยีสต์ *Lipomyces starkeyi* มีความสามารถในการผลิตเดกซ์แทรนเนสได้ โดยทำการควบคุมการผลิตเอนไซม์ที่ค่าความเป็นกรดเบส 5.2±0.1 และอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 28±0.5°ซ จะทำให้เกิดการสร้างเดกซ์แทรนที่มีขนาดตามต้องการได้ ต่อมาในปี 1995 Kim และ Day ได้ทำการกลายพันธุ์ *Lipomyces starkeyi* โดยใช้เอทิลมีเทนซัลโฟเนต (ethyl methane sulphonate) เพื่อให้ *Lipomyces starkeyi* มีความสามารถในการผลิตเดกซ์แทรนเนสที่มีคุณสมบัติดีขึ้น จากนั้นจึงนำไปเลี้ยงร่วมกับ *L. mesenteroides* พบว่ามีการผลิตเดกซ์แทรนทางการแพทย์ได้สูงถึง 94% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นอกจากนี้ยังมีการรายงานว่า การใช้อัตราส่วนระหว่างเดกซ์แทรนซูเครสและเดกซ์แทรนเนสเป็น 100:1 จะมีการสร้างเดกซ์แทรนทางการแพทย์ได้ในปริมาณมาก (Kubik และคณะ, 2004)

Goulas และคณะ (2004) ได้ผลิตและทำบริสุทธิ์เดกซ์แทรนซูเครสและเดกซ์แทรนเนสเพื่อนำมาใช้ในการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ และโอลิโกเดกซ์แทรน ในระบบการหมักแบบแบช โดยมีการศึกษาถึงอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด พบว่าอัตราส่วนระหว่างเดกซ์แทรนซูเครสและเดกซ์แทรนเนสที่เหมาะสมในการผลิตพรีไบโอติกจะอยู่ในช่วง 1:1 หรือ 1:2

องค์ประกอบของเดกซ์แทรน

Miyaji และ Misaki (1973) ได้ศึกษาโครงสร้างของเดกซ์แทรนที่ได้จาก *L. mesenteroides* NRRL B-1397 โดยการไฮโดรไลซ์เดกซ์แทรนที่มีหมู่เมทิล (methylated dextran) ด้วยกรด พบว่ามีน้ำตาลกลูโคสชนิด 2,3,4,6-tetra-, 2,3,4-tri-, 3,4,-di- และ 2,4-di-O-methyl-D-glucose ในอัตราส่วน 1.0:3.1:0.7:0.2 และยังมีชนิดที่เป็น 2,4,6-tri-O-methyl-D-glucose เล็กน้อย ซึ่งจะเห็นได้ว่ามีการเกิดกิ่งสาขามากในพันธะส่วน O-2 และ O-3 มากกว่าบริเวณอื่น และจากการไฮโดรไลซ์คาร์บอกซิลเดกซ์แทรน (carboxyl-dextran) ด้วยกรด จะพบส่วนของ 2-O-(α-D-glucopyranosyluronic acid)-D-glucose (เป็นส่วนใหญ่) 6-O-(α-D-glucopyranosyluronic acid)-D-glucose และพบผลิตภัณฑ์ชนิดต่างๆ ผสมกันมีทั้ง aldotri-, aldotetra-, และ aldopentaouronic acid ซึ่งเป็นพันธะไกลโคซิดิกชนิด (1→6) และ (1→2) สามารถสรุปได้ว่า โดยส่วนใหญ่จะเกิดกิ่งสาขาที่พันธะส่วน O-2 ถ้าเป็นน้ำตาลกลูโคสโมเลกุลเดียว แต่การเกิดกิ่งสาขาที่พันธะส่วน O-3 จะเป็นน้ำตาลกลูโคส 2 โมเลกุลต่อกัน โดยจะพบการเกิดกิ่งสาขาในหน่วยซ้ำๆ กันของกลูโคสทุกๆ 5 หน่วย

Germaine และคณะ (1974) ตรวจสอบองค์ประกอบของเดกซ์แทรน โดยการย่อยสลายเดกซ์แทรน 50 มิลลิกรัม ด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.3 นอร์มัล 1 มิลลิลิตร เป็นเวลา 45 นาที ทำให้เย็นและปรับให้สารละลายเป็นกลาง จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปตรวจสอบชนิดของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบกระดาษ พบว่าผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น คือกลูโคส ไอโซมอลโทส ไอโซมอลโทไทรโอส (isomaltotriose) ไอโซมอลโทเพนทะโอส (isomaltopentaose) และไอโซมอลโทเฮกซะโอส (isomaltohexaose)

Fukui และคณะ (1982) ตรวจสอบองค์ประกอบของเดกซ์แทรนที่ไม่ละลายน้ำ จาก *S. mutans* 6715 โดยใช้เดกซ์แทรน 10 มิลลิกรัม อุ่นให้ร้อน เติมกรดฟอร์มิกความเข้มข้น 98% โดยปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร ต้มที่ 100°ซ เป็นเวลา 30 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วยการทำให้เย็นทันที เติม Dowex-1 ($HCOO^-$) แล้วนำไประเหยแห้ง จากนั้นตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบกระดาษ พบว่าผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นคือ ไอโซมอลโทส และไนจีโรส (nigerose) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเดกซ์แทรนดังกล่าวประกอบด้วยพันธะ α-1,6 และ α-1,3

Antti และคณะ (1999) พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์พร้อมทั้งมีการสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ในกระบวนการผลิตน้ำตาลจากหัวบีท (sugar beet) ทำให้เกิดปัญหาต่อกระบวนการและคุณภาพของผลิตภัณฑ์ จึงมีการศึกษาถึงชนิดของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบในพอลิแซ็กคาไรด์ที่จุลินทรีย์ดังกล่าวผลิตขึ้น โดยการนำพอลิแซ็กคาไรด์มาไฮโดรไลส์ด้วยกรดซัลฟู

ริก 1 นอร์แมล ที่ 120°ซ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เป็นกลางด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 5 โมลาร์ แล้วนำไปวิเคราะห์น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เกิดขึ้น โดยวิธีไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟีพบว่าน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่พบมากที่สุดคือ กลูโคส

สมบัติของสสารในขณะที่เป็นของเหลว (rheological properties) ของเดกซ์แทรน

Lee และ Park (1992) ได้ศึกษาถึงผลของเวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของสสารในขณะที่เป็นของเหลวของเดกซ์แทรนจาก *L. mesenteroides* พบว่าคุณสมบัติดังกล่าวและการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุล จะเปลี่ยนแปลงไปตามเวลาในการเกิดปฏิกิริยา โดยความหนืดของสารละลายจะเพิ่มมากขึ้นจนกระทั่งถึง 8 ชั่วโมงความหนืดจะค่อยๆ ลดลง และอุณหภูมิในการเกิดสารละลายของเดกซ์แทรนจะมีพลังงานสูงที่สุดที่ชั่วโมงที่ 8 เช่นเดียวกัน โดยศึกษาจากสมการของ Arrhenius

Tirtaatmadja และ คณะ (2001) ได้ศึกษาคุณสมบัติของเดกซ์แทรนที-2000 (น้ำหนักโมเลกุล 2,000,000) ในสถานะที่เป็นของเหลวที่ความเข้มข้นต่างๆ เช่น ความหนืด พบว่าเดกซ์แทรนเป็นโมเลกุลที่มีความแข็งน้อยกว่า และมีการเกิดกิ่งสาขามากกว่าคาร์โบไฮเดรตทั่วไป ดังนั้นในสารละลายโมเลกุลของเดกซ์แทรนจึงมีโครงสร้างที่แข็งแรงมาก

การตกตะกอนเดกซ์แทรน และการทำบริสุทธิ์เดกซ์แทรน และเดกซ์แทรนซูเครสโดยวิธีโครมาโทกราฟี

วิธีการตกตะกอนเดกซ์แทรนด้วยเอทานอลที่อุณหภูมิต่ำ เป็นวิธีการที่ดัดแปลงมาจากวิธีของ Koepsell และคณะ (1952) และ Nicholson และ Horsley (1959) โดยพอลิแซ็กคาไรด์จะไม่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายเอทานอลจึงเกิดการตกตะกอนลงมา ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้หลักการเดียวกันกับการตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์ออกจากเครื่องดื่มประเภทแอลกอฮอล์ เช่น เบียร์ และไวน์ด้วยอุณหภูมิที่เย็นจัด (haze method) โดยพอลิแซ็กคาไรด์เหล่านี้จะทำให้เบียร์หรือไวน์เกิดความขุ่น รสชาติที่ไม่ดี และเกิดการเน่าเสียตามมา จึงต้องมีการตกตะกอนเพื่อกำจัดพอลิแซ็กคาไรด์เหล่านี้ออกไป (Baker และคณะ, 1912) ดังนั้นวิธีนี้จึงเป็นแนวทางสำคัญในการศึกษาปริมาณของเดกซ์แทรน

Kim และ Robyt (1994b) ได้ศึกษาวิจัยถึงคุณสมบัติของเดกซ์แทรนซูเครสที่ได้จากการเลี้ยงสายพันธุ์กลาย *L. mesenteroides* B-512FMC ในอาหารที่ใช้แหล่งคาร์บอนต่างๆ ได้แก่

I28491218

น้ำตาลซูโครส กลูโคส และฟรักโทส ที่ความเข้มข้น 0.6% และ 3.0% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่าแหล่งคาร์บอนทั้ง 3 ชนิด ทั้ง 2 ความเข้มข้นจะมีการผลิตเดกซ์แทรนซูเครสที่จับกับเซลล์เช่นเดียวกัน จากนั้นจึงทดลองทำบริสุทธิ์เดกซ์แทรนซูเครสโดยใช้การตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต ทำโครมาโทกราฟีโดยใช้ไฮดรอกซีอะพาไทท์ (hydroxyapatite chromatography) และการดูดซับด้วยวิธีเจลฟิลเทรชัน (gel filtration) ชนิด G-100 และ G-200 พบว่าเอนไซม์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อในอาหารที่ใช้น้ำตาลกลูโคสและซูโครสสามารถดูดซับโดยวิธีนี้ได้ แต่เอนไซม์จากอาหารซูโครสจะดูดซับได้มากกว่าเล็กน้อย นอกจากนี้ยังศึกษาถึงน้ำหนักโมเลกุลและหน่วยย่อยของเอนไซม์จากการทำอิเล็กโทรฟอริซิส โดยพบว่าเอนไซม์มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 184 กิโลดาลตัน และประกอบด้วย 3 หน่วยย่อยที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 65 62 และ 57 กิโลดาลตัน ตามลำดับ ซึ่งมี 2 หน่วยย่อยที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่รวมซ้อนกันที่ 63 กิโลดาลตัน และอีกหนึ่งหน่วยย่อยมีน้ำหนักโมเลกุลที่เล็กกว่าเท่ากับ 59 กิโลดาลตัน

Coelho และคณะ (2002) ได้ศึกษาการทำบริสุทธิ์ของเดกซ์แทรนที่ได้จาก *L. mesenteroides* NRRL B512(f) ซึ่งโดยปกติการผลิตเดกซ์แทรนจะมีส่วนของน้ำตาลฟรักโทสอิสระปลดปล่อยออกมาด้วย จึงแยกส่วนประกอบทั้ง 2 โดยใช้โครมาโทกราฟีชนิด simulated moving bed (SMB) chromatography ซึ่งพบว่าความบริสุทธิ์ของทั้งเดกซ์แทรนและน้ำตาลฟรักโทสมีความบริสุทธิ์สูงมาก

การชักนำการสร้างเดกซ์แทรนเนสโดยเดกซ์แทรน

García และ Rodríguez (2000) ได้ศึกษาถึงแหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อการควบคุมการผลิตเดกซ์แทรนเนสในระดับยีนโดยรา *P. minioluteum* พบว่าเดกซ์แทรนเป็นแหล่งคาร์บอนที่ชักนำให้เกิดการแสดงออกของยีน *dexA* ในระดับ mRNA ให้เกิดการสร้างเดกซ์แทรนเนส ถึงแม้ว่า *P. minioluteum* จะสามารถเจริญได้ในแหล่งคาร์บอนหลายชนิด ได้แก่ แป้ง กลูโคส กลีเซอรอล แลคโทส และซอร์บิทอล เป็นต้น แต่แหล่งคาร์บอนเหล่านี้ไม่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างเดกซ์แทรนเนสได้ และในภาวะที่มีกลูโคสและกลีเซอรอลความเข้มข้น 1% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร มีผลในการยับยั้งการผลิตเดกซ์แทรนเนส โดยสามารถสรุปได้ว่ามี 2 กลไกที่เกี่ยวข้องในการควบคุมการผลิตเดกซ์แทรนเนสโดยยีน *dexA* คือ กลไกการเหนี่ยวนำด้วยเดกซ์แทรน และการควบคุมโดยกลูโคสและกลีเซอรอล

กระบวนการย่อยเดกซ์แทรนซูเครสโดยเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่ปลดปล่อยจาก *L. mesenteroides*

Sánchez-González และคณะ (1999) ได้ศึกษาถึงการผลิตโปรติเอสของ *L. mesenteroides* สายพันธุ์ NRRL B-512F และสายพันธุ์ B-512FMC ซึ่งเอนไซม์นี้จะผลิตและปลดปล่อยออกมาภายนอกเซลล์เช่นเดียวกับเดกซ์แทรนซูเครส และยังขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรดเบสของอาหารเลี้ยงเชื้ออีกด้วย โดยพบว่าการไฮโดรไลซ์เดกซ์แทรนซูเครส (173 กิโลดาลตัน) ด้วยโปรติเอสในภาวะที่มีค่าความเป็นกรดเบส 7.0 และอุณหภูมิ 23°ซ เดกซ์แทรนซูเครสจะมีมวลโมเลกุลเหลือประมาณ 120 กิโลดาลตัน ซึ่งการสังเคราะห์โปรติเอสจะมีผลในการทำลายเดกซ์แทรนซูเครส

นอกจากงานวิจัยที่กล่าวไปข้างต้นแล้ว ปัจจุบันได้มีการปรับปรุงการผลิตเดกซ์แทรนและเดกซ์แทรนซูเครสให้ได้ปริมาณมากขึ้นและมีคุณสมบัติที่ดีขึ้น เช่น การใช้เทคนิคในการตรึงเซลล์หรือตรึงเดกซ์แทรนซูเครส และการใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมในการปรับปรุงสายพันธุ์ของ *L. mesenteroides* ในการผลิตเดกซ์แทรนอีกด้วย

การตรึงเดกซ์แทรนซูเครสมีหลายวิธี ซึ่งมีการรายงานว่าการกักเอนไซม์ด้วยแคลเซียมแอลจิเนต (calcium alginate) เป็นวิธีที่ได้ผลดีที่สุด โดย Tanriseven และ Doğan (2002) ทดลองตรึงเดกซ์แทรนซูเครสด้วยเส้นใยแอลจิเนต (fibre) แทนการใช้เม็ดบีดแอลจิเนต แต่ประสิทธิภาพของเดกซ์แทรนซูเครสตรึงรูปจะลดลงเรื่อยๆ เมื่อใช้ซ้ำหลายๆ ครั้ง เนื่องจากเดกซ์แทรนที่ผลิตออกมาจะไม่สามารถแพร่ผ่านเม็ดบีดได้ และต่อมาเพื่อเพิ่มความแข็งแรงให้แก่เม็ดบีด Kubik และคณะ (2004) จึงศึกษาถึงการป้องกันการหลุดของเดกซ์แทรนซูเครสออกจากเม็ดบีดแอลจิเนต โดยเคลือบเม็ดบีดด้วยพอลิเมอร์ที่มีประจุบวก (polycationic polymer) เช่น ไคโตซาน (chitosan) และ DEAE-เดกซ์แทรน (DEAE-dextran) ซึ่งจะสร้างเมมเบรนที่ผิวของเม็ดบีด และสำหรับการครอสลิงค์ด้วยกลูทารัลดีไฮด์แล้วจึงกักด้วยเม็ดบีดแอลจิเนต จะทำให้สารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเดกซ์แทรนซูเครสและเดกซ์แทรนมีความคงตัว และยังสามารถป้องกันเดกซ์แทรนจากการถูกทำลายด้วยเดกซ์แทรนเนส เพื่อนำไปใช้ประยุกต์ในการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ได้อีกด้วย โดยเทคนิคในการตรึงมักจะใช้กับกระบวนการหมักที่มีแรงกดดันสูง ซึ่งการตรึงเอนไซม์จะมีผลช่วยให้เอนไซม์มีความเสถียรและความคงทนมากขึ้น แต่การผลิตเดกซ์แทรนจะส่งผลถึงการสะสมของเดกซ์แทรนซึ่งทำให้ขนาดของเม็ดบีดใหญ่ขึ้นด้วย ดังนั้นวิธีการตรึงเดกซ์แทรนซูเครสในปัจจุบันจึงมุ่งเน้นในเรื่องของการรักษาเสถียรภาพของเอนไซม์ตรึงรูป ในภาวะที่มีการรบกวนของเดกซ์แทรนเนส และการนำกลับมาใช้ซ้ำมากกว่า

นอกจากนี้ได้มีการปรับปรุงสายพันธุ์ของ *L. mesenteroides* ในการผลิตเดกซ์แทรน โดยใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรม ซึ่งทำให้โครงสร้างและคุณสมบัติของเดกซ์แทรนที่ผลิตจากสายพันธุ์กลายต่างๆ มีความแตกต่างกันออกไป เช่น อาจเป็นเอนไซม์ที่อยู่ภายในเซลล์หรือผลิตออกมาภายนอกเซลล์ กลไกการเกิดปฏิกิริยาของตัวรับ ขนาดของโมเลกุล ชนิดของพันธะไกลโคซิดิก การเกิดกิ่งสาขา การละลายน้ำ ค่าความเป็นกรดเบสและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา กิจกรรมในการเกิดปฏิกิริยา และการไฮโดรไลซ์ด้วยเดกซ์แทรนเนส ซึ่งเมื่อศึกษาในระดับยีนเกี่ยวกับการผลิตเอนไซม์พบว่ามีความแตกต่างกัน เป็นต้น (Kim และ Robyt, 1994a; Kim และ Robyt, 1995a; Monchois และคณะ, 1996; Monchois และคณะ, 1998a; Argüello-Morales และคณะ, 2000; Kim และคณะ, 2000b; Park และคณะ, 2001 และ Kang และคณะ, 2003)